



UNIVERSIDAD
DE MURCIA

Escuela
de Doctorado

TESIS DOCTORAL

*Análisis del rendimiento en situaciones de
entrenamiento y/o competición en deportes
colectivos, mediante
indicadores de carga interna y externa.*

AUTOR/A Alejandro Soler López

DIRECTOR/ES José Pino Ortega

2025



UNIVERSIDAD
DE MURCIA

Escuela
de Doctorado

TESIS DOCTORAL

*Análisis del rendimiento en situaciones de
entrenamiento y/o competición en deportes
colectivos, mediante
indicadores de carga interna y externa.*

AUTOR/A Alejandro Soler López

DIRECTOR/ES José Pino Ortega

2025



**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA EN
MODALIDAD DE COMPENDIO O ARTÍCULOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR/A**

Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19 de octubre de 2022.

Yo, D. Alejandro Soler López, habiendo cursado el Programa de Doctorado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Murcia (EIDUM), como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor/a titulada:

Análisis del rendimiento en situaciones de entrenamiento y/o competición en deportes colectivos, mediante indicadores de carga interna y externa.

y dirigida por:

D.: José Pino Ortega

D.:

D.:

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Además, al haber sido autorizada como prevé el artículo 29.8 del reglamento, cuenta con:

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Murcia, a 11 de Junio de 2025

(firma)

ALEJANDRO|
SOLER|LOPEZ

Firmado digitalmente por
ALEJANDRO|SOLER|LOPEZ
Fecha: 2025.06.11 19:18:36
+02'00'

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados:	
Responsable	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la quinta hoja, después de la portada de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor/a.

Un hombre viaja alrededor del mundo para buscar lo que necesita y vuelve a su hogar para encontrarlo (George Moore)

AGRADECIMIENTOS

En un viaje tan prolongado, difícil y tan personal como el del final de una tesis doctoral, pocos dejan su huella, de un modo u otro, en él. Esta página está dedicada a todos ellos: a los que me acompañaron cada día y a los que, de otra manera, supieron estar conmigo cuando más los necesitaba. Por compartir este viaje, gracias.

A mis padres, María José y Celestino, pilares indiscutibles de mi vida. Gracias por señalarme el camino a seguir, por vuestra paciencia y dedicación, y por tener siempre un lugar al que volver a casa, sin importar cuando ni siquiera sabía que lo necesitaba.

A mi hermana Laura, mi silencioso modelo a seguir. Tu resistencia en la vida, tu apoyo inquebrantable y la forma en que has respaldado mis decisiones me han servido de inspiración. Gracias por ser a la vez mi espejo y mi impulso.

A mi pareja Abril, por ser mi amiga, mi paz y mi fuerza. Por aceptar cada una de mis dudas, cada uno de mis éxitos y cada una de mis caídas como propias. Has existido en lo visible y en lo invisible. Gracias por tu luz infalible.

A mi primo Daniel, con el que no sólo comparto sangre, sino experiencias vitales, valores y un compromiso solidificado por el paso del tiempo. Por el hogar, cada palabra, cada recuerdo, cada paso.

A mis amigos de toda la vida, aquellos con los que crecí, que valoraron mis silencios y que bailaron conmigo celebrando hasta mis más escasas victorias como si fueran propias. A todos vosotros: gracias por no soltarme nunca la mano cuando más os necesitaba.

A mi segunda familia, la que me dio la vida por el trabajo. A Rubén, mi amigo en tantas dificultades, y a todos los pacientes con los que he compartido

tiempo, aprendido y humanidad. Gracias por enseñarme a ver más allá de los datos y los resultados, y recordarme a diario por qué soy médico.

A mi director de tesis, José Pino Ortega, cuya guía intelectual fue igualada por su confianza, generosidad y tutoría profundamente humana, bendiciones que quizá nunca pueda devolver en su totalidad. José, tu apoyo inquebrantable en las horas más sombrías ha dejado una huella indeleble en mí. No sólo has sido un mentor, sino también un verdadero amigo y un guía en la vida. Gracias por todo lo que me has dado, incluso sin saber que lo necesitaba.

A todos los que aportaron su experiencia y colaboración a lo largo del camino -Adrián Moreno Villanueva, Carlos David Gómez Carmona y Ana María Gutiérrez-, gracias por vuestro compromiso, las oportunidades colectivas y vuestra creencia en un proyecto que ahora también es vuestro. Especialmente a Ana María y al personal del laboratorio veterinario, gracias por abrir las puertas, ofrecer vuestra experiencia y animar este trabajo con una perspectiva multidisciplinar que fue vital para su creación.

A todos los que formaron parte de este viaje, a los que no he nombrado, pero llevo en el corazón, y a los que vinieron para unirse a nosotros sin saberlo y se quedaron para siempre, esta victoria también es vuestra.

Gracias, desde lo más profundo de mi corazón.

.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	12
ÍNDICE DE TABLAS.....	18
ÍNDICE DE FIGURAS.....	20
PRÓLOGO.....	24
PARTE I.	28
MARCO TEÓRICO.....	28
1. AUMENTO DEL RENDIMIENTO DEPORTIVO A TRAVÉS DE LA PROGRAMACIÓN Y CONTROL DE LAS CARGAS DE TRABAJO.....	30
1.1. <i>Análisis del concepto de carga de trabajo y su impacto en la fatiga.</i>	31
2. CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA DE TRABAJO MEDIANTE INDICADORES DE CARGA INTERNA Y EXTERNA	34
2.1. PROCEDIMIENTOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA EXTERNA DE TRABAJO.....	34
2.1.1 <i>Dispositivos de seguimiento</i>	35
2.1.2. <i>Microtecnología</i>	41
2.2. PROCEDIMIENTOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA INTERNA DE TRABAJO.....	43
2.2.1 <i>Variables subjetivas</i>	43
2.2.2 <i>Variables fisiológicas</i>	44
2.2.3 <i>Biomarcadores bioquímicos, hormonales e inmunológicos</i>	46
PARTE II.	52
OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	52
OBJETIVO GENERAL.....	54
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	54
PARTE III.	56
METODOLOGÍA.....	56
1. METODOLOGÍA ESTUDIO I.....	58

1.1	<i>Diseño</i>	58
1.2.	<i>Criterios de inclusión y exclusión</i>	59
1.3.	<i>Estrategia de cribado y selección de estudios</i>	61
1.4.	<i>Calidad de los estudios</i>	61
2.	METODOLOGÍA ESTUDIO II	62
2.1.	<i>Planteamiento experimental del problema</i>	62
2.2.	<i>Sujetos</i>	63
2.3.	<i>Recogida de saliva</i>	64
2.4.	<i>Ensayos</i>	65
2.5.	<i>Análisis estadístico</i>	67
3.	METODOLOGÍA ESTUDIO III	69
3.1.	<i>Planteamiento experimental del problema</i>	69
3.2.	<i>Sujetos</i>	70
3.3	<i>Recopilación de datos LPS</i>	71
3.4.	<i>Recolección de Saliva</i>	73
3.5 .	<i>Análisis estadístico</i>	75
	PARTE IV	78
	RESULTADOS	78
1.	RESULTADOS ESTUDIO I	80
1.1.	<i>Identificación y selección de estudios</i>	80
1.2.	<i>Calidad metodológica</i>	80
1.3.	<i>Características de los Estudios Seleccionados</i>	82
2.	RESULTADOS ESTUDIO II	96
2.1	<i>Carga Aguda</i>	96
2.2	<i>Carga crónica</i>	98
3.	RESULTADOS ESTUDIO III	100
3.1	<i>Características básicas de los jugadores de futsal</i>	100
3.2	<i>Relación entre las variables internas y el "Player Load"</i>	102
3.3	<i>Relación entre las variables externas e internas y el "Player Load"</i>	105
3.4	<i>Análisis de la interacción entre variables internas y externas</i>	106

PARTE V	109
DISCUSIÓN	109
1. DISCUSIÓN ESTUDIO I.....	111
1.1. MARCADORES HORMONALES.....	112
1.2. <i>Marcadores de Daño Muscular</i>	114
1.3. <i>Marcadores inmunológicos</i>	116
1.4. <i>Marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo</i>	118
1.5. <i>Diferencias de sexo en la monitorización de la fatiga crónica</i>	120
2. DISCUSIÓN ESTUDIO II.....	122
2.1. <i>Carga Aguda</i>	122
2.2. <i>Carga Crónica</i>	125
3. DISCUSIÓN ESTUDIO III	127
3.1. <i>Variables de carga externa que explican en mayor medida el “Player Load”</i>	127
3.2 <i>Variables de carga interna que más explican el “Player Load”</i>	128
3.3. <i>Influencia de la Proteína Total y su relación con las variables de carga externa</i>	129
PARTE V	133
CONCLUSIONES Y APLICACIONES PRÁCTICAS	133
ESTUDIO I.....	135
ESTUDIO II	136
ESTUDIO III	136
PARTE VI.....	139
FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN	139
ESTUDIO I.....	141
ESTUDIO II	141
ESTUDIO III	142
BIBLIOGRAFÍA	143
ANEXOS	169

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Dado que el inglés es el idioma predominante en la literatura científica, y que los tres trabajos que componen esta tesis se han desarrollado en dicho idioma, se ha decidido mantener los principales anglicismos y acrónimos ingleses propios de esta área de conocimiento. A continuación, se presenta la lista de abreviaturas y sus equivalentes en español.

Acrónimo	Descripción en Castellano	Significado
AOPP	Productos de oxidación avanzada de proteínas	Marcadores de daño oxidativo en proteínas, asociados al estrés oxidativo.
ASRM	Medidas de autoinforme del atleta	Cuestionarios subjetivos que valoran la percepción del bienestar, fatiga, dolor, etc.
bpm	Latidos por minuto	Unidad para medir la frecuencia cardíaca.
C	Cortisol	Hormona relacionada con el estrés y la respuesta inflamatoria.
CAT	Catalasa (enzima antioxidante)	Enzima que neutraliza el peróxido de hidrógeno, protegiendo las células del daño oxidativo.
CK	Creatina quinasa	Enzima cuya elevación indica daño muscular.
CRP	Proteína C reactiva	Marcador inflamatorio agudo en sangre.
DALDA	Evaluación del estado diario y niveles de adaptación	Cuestionario para evaluar el estrés y recuperación del atleta.

DOMS	Dolor muscular de aparición tardía	Dolor que ocurre tras ejercicio intenso, típico entre 24-72 horas después.
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas	Técnica para detectar y cuantificar sustancias como hormonas o anticuerpos.
EPTS	Sistemas Electrónicos de Rendimiento y Seguimiento	Tecnología para monitorizar el rendimiento físico (GPS, acelerómetros).
FIFA	Federación Internacional de Fútbol Asociación	Organismo rector del fútbol a nivel mundial.
FM	Partido amistoso	Competición no oficial entre equipos.
FRAP	Capacidad de reducción férrica del plasma	Medida de la capacidad antioxidante del plasma.
G	Gravedad (unidad de aceleración)	Unidad que mide aceleración respecto a la gravedad terrestre.
GB	Gradient Boosting (Potenciación del Gradiente)	Algoritmo de aprendizaje automático basado en árboles de decisión.
GNSS	Sistemas globales de navegación por satélite	Conjunto de satélites para determinar ubicación globalmente (GPS, GLONASS, etc.).
GSH	Glutación reducido	Antioxidante celular fundamental en su forma activa.
GSSG	Glutación oxidado	Forma oxidada del glutatión; indica estrés oxidativo.
Hb	Hemoglobina	Proteína en glóbulos rojos que transporta oxígeno.
Hct	Hematocrito	Porcentaje de glóbulos rojos en el volumen sanguíneo total.
HRR	Recuperación de la frecuencia cardiaca	Ritmo al que disminuye la frecuencia cardiaca tras el ejercicio.

HRV	Variabilidad de la frecuencia cardiaca	Fluctuación entre latidos del corazón; refleja estado del sistema nervioso autónomo.
hs-CRP	Proteína C-reactiva de alta sensibilidad	Variante ultrasensible de CRP usada para detectar inflamación baja crónica.
Hz	Hercios (unidad de frecuencia)	Número de ciclos por segundo, usada en bioseñales, vibraciones, etc.
ID	Identificación	Código o número único asignado a un individuo o muestra.
IES	Muestra interna y externa	Evaluación tanto del rendimiento físico como del contexto emocional/mental.
IL-6	Interleucina-6	Citocina involucrada en la respuesta inflamatoria.
IMA	Albúmina modificada por isquemia	Biomarcador que indica daño por falta de oxígeno en tejidos.
LDH	Lactato deshidrogenasa	Enzima que participa en el metabolismo energético; indica daño celular.
Ln (RMSSD)	Logaritmo natural de la raíz cuadrada de la media de las diferencias sucesivas entre R-R	Transformación matemática del índice RMSSD para HRV.
LPS	Sistemas de posicionamiento local	Tecnología similar al GPS pero para uso en interiores o espacios cerrados.
MCH	Hemoglobina corpuscular media	Promedio de hemoglobina por glóbulo rojo.
MCHC	Concentración media de hemoglobina corpuscular	Relación entre hemoglobina y volumen globular.
MCV	Volumen corpuscular medio	Tamaño medio de los glóbulos rojos.
mg/mL	Miligramos por mililitro (unidad de concentración)	Unidad de concentración de una sustancia en un líquido.
MINORS	Índice metodológico para estudios no aleatorizados	Herramienta para evaluar calidad de estudios observacionales.

nm	Nanómetro (unidad de longitud de onda)	Unidad que mide longitudes extremadamente pequeñas (1 nm = 10 ⁻⁹ m).
PlayerLoad™	Índice para cuantificar la carga acumulada (dispositivos inerciales)	Medida del estrés físico total usando acelerometría triaxial.
PLT	Plaquetas sanguíneas	Células que participan en la coagulación sanguínea.
POMS	Perfil de estados de ánimo	Cuestionario que mide diferentes estados emocionales.
PRISMA	Elementos de informe preferidos para revisiones sistemáticas y metaanálisis	Guía para la presentación transparente de revisiones científicas.
PT	Entrenamiento físico	Actividad planificada para mejorar la condición física.
R-S Ps	Sistema nervioso simpático-parasimpático	Sistema nervioso simpático-parasimpático
RBC	Glóbulos rojos	Células sanguíneas encargadas de transportar oxígeno.
REST-Q	Cuestionario de recuperación-estrés	Instrumento que mide el equilibrio entre estrés y recuperación.
RF	Random Forest (Bosque Aleatorio)	Algoritmo de inteligencia artificial basado en múltiples árboles de decisión.
RMSSD	Raíz cuadrada de la media de las diferencias sucesivas entre intervalos R-R	Índice HRV que refleja actividad parasimpática.
RPE	Índice de esfuerzo percibido	Escala subjetiva para estimar la intensidad del ejercicio.
s-AA	α-Amilasa salival	Enzima en saliva asociada con actividad simpática.
s-C	Concentración de cortisol salival	Indicador no invasivo de estrés fisiológico.
s-Lys	Lisozima salival	Enzima antibacteriana en la saliva, relacionada con inmunidad innata.

s-T	Testosterona salival	Hormona esteroide medida en saliva, relacionada con el rendimiento.
s-T:C	Relación testosterona:cortisol salival	Indicador del balance anabólico-catabólico.
sORP	Marcador de potencial de óxido-reducción estático	Mide el equilibrio entre oxidantes y reductores en un sistema biológico.
sd	Desviación estándar	Medida estadística de la dispersión de los datos.
Ig. A /SIgA	Inmunoglobulina A salival	Anticuerpo que actúa en la mucosa oral, indica estado inmunológico.
SS	Muestra salival	Recolección de saliva para análisis biológicos.
T	Testosterona	Hormona anabólica clave en el desarrollo muscular y recuperación.
T/C	Relación testosterona/cortisol	Indicador de estrés fisiológico y balance hormonal.
TAC	Capacidad antioxidante total	Medida del poder antioxidante general de un fluido biológico.
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico	Indicadores de daño oxidativo lipídico.
TMB	Tetrametilbenzidina (reaccionante en ensayos como ELISA)	Sustancia usada como reactivo cromogénico en pruebas como ELISA.
TNF α	Factor de necrosis tumoral alfa	Citocina proinflamatoria importante en respuesta inmune.
TOS	Estado oxidante total	Nivel global de agentes oxidantes en una muestra.
TQR	Recuperación total de calidad	Escala subjetiva para evaluar el nivel de recuperación tras esfuerzo.
TT	Entrenamiento técnico-táctico	Prácticas dirigidas a mejorar habilidades técnicas y toma de decisiones tácticas.

URI	Infecciones de las vías respiratorias altas	Enfermedades respiratorias comunes que afectan el rendimiento.
VID	Sistemas ópticos (de vídeo análisis)	Tecnologías para registrar y analizar acciones deportivas por vídeo.
WBC	Glóbulos blancos	Células inmunitarias que combaten infecciones.
µL	Micro litro (unidad de volumen)	Milésima parte de un mililitro, usada en análisis biológicos.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Entrenamiento, calendario repleto de partidos y toma de muestras de saliva durante la pretemporada.

Tabla 2. Distribución temporal de las sesiones de entrenamiento y muestreo interno y externo durante la pretemporada.

Tabla 3. Evaluación del riesgo metodológico de sesgo mediante la lista de comprobación Minors.

Tabla 4. Características de los estudios.

Tabla 5. Prueba t de medidas independientes para evaluar las diferencias en el efecto agudo entre los contextos de entrenamiento y partido.

Tabla 6. Valores medios de los diferentes parámetros evaluados en los jugadores de fútbol sala.

Tabla 7. Modelo de regresión lineal utilizando la Carga del Jugador como variable dependiente y los parámetros intrínsecos como variables independientes. El análisis se realizó sólo con aquellas variables que mostraban baja colinealidad y un VIF < 5.

Tabla 8. Resumen de biomarcadores clave para la evaluación de la fatiga crónica en atletas élite de deportes de equipo.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica de la de la disposición de los nodos (antenas) y su comunicación en un sistema de localización por radiofrecuencia, utilizando tecnología de ultra banda ancha (UWB) con un total de 7 antenas (elaboración propia)."

Figura 2. Diagrama de flujo PRISMA.

Figura 3. Representación gráfica de los tubos estériles utilizamos para recoger las muestras de saliva (*elaboración propia*).

Figura 4. Representación gráfica de antenas y sistemas WIMU PRO™ (RealTrack Systems, Almería, España)

Figura 5. Ilustración de los niveles de fatiga aguda antes y después de las sesiones, tanto en contextos de entrenamiento como de partido, centrándose en las variables inmunológicas y oxidativas. Algunas notas: SIgA significa inmunoglobulina A salival, TOS se refiere al estado oxidante total y TAC es la capacidad antioxidante total. Los resultados indican diferencias significativas, con las siguientes interpretaciones de la d de Cohen: pequeña ($d = 0,2$ a $0,49$), media ($d = 0,5$ a $0,79$) y grande ($d \geq 0,8$).

Figura 6. Dinámica de los marcadores inmunológicos y oxidativos en cuatro momentos a lo largo del periodo de encuentro con alta concentración de jugadores (pre: prepartido; post: postpartido; 48 h: 48 horas después del partido; 120 h: 120 horas después del partido). Nota: SIgA: Inmunoglobulina A salivar; TOS: Estado oxidante total; TAC: Capacidad antioxidante total. α : Diferencias estadísticas respecto a la condición prepartido ($p < 0,05$); β :

Diferencias estadísticas respecto a la condición postpartido ($p < 0,05$); γ : Diferencias estadísticas respecto a la condición 48 h después del partido ($p < 0,05$); δ : Diferencias estadísticas respecto a la condición 120 h después del partido ($p < 0,05$).

Figura 7. Diagrama de dispersión Diagrama de dispersión que muestra la correlación entre las variables intrínsecas (a-c) y extrínsecas (d-f) con el “Player Load”. Los puntos individuales se muestran como puntos negros. La línea continua azul representa el mejor ajuste de un modelo de regresión lineal. El área azul claro representa el intervalo de confianza del 95% para la línea de regresión.

Figura 8. Importancia de las variables intrínsecas y extrínsecas en la predicción de el “Player Load” de fútbol sala mediante los métodos random forest (RF) y gradient boosting (GB). Los recuadros a-b representan los modelos basados en variables intrínsecas, y los recuadros c-d los de variables extrínsecas. La importancia de las distintas variables en los modelos RF (a-c) se calculó mediante el aumento de la pureza de los nodos, y la importancia en el modelo GB (b-d) se estimó mediante el parámetro de importancia relativa.

Figura 9. Modelo Random Forest considerando variables intrínsecas y extrínsecas atendiendo al algoritmo random forest (RF, panel izquierdo) y al gradient boosting (GBM, panel derecho).

Figura 10. Relación entre aceleraciones (panel izquierdo), desaceleraciones (panel derecha) distancia 15-18km/h (panel inferior) y proteína salival total en los diferentes jugadores. Cada panel muestra datos individuales de cada sesión y la línea de regresión ajustada para cada jugador. Este análisis exploratorio permite observar posibles patrones individuales en la relación entre una

variable externa y una variable fisiológica (Proteína Total), poniendo de manifiesto la heterogeneidad interindividual en la respuesta a la carga física.

PRÓLOGO

La monitorización de la carga de trabajo en el entrenamiento y la competición está incrementándose rápidamente en los deportes de colaboración-oposición, con especial énfasis en el análisis del volumen, intensidad y frecuencia de las demandas respecto a la condición física de los jugadores y la incidencia en las lesiones deportivas. Los avances tecnológicos están contribuyendo a la mejora de la colección de datos cinemáticos con relación a la competición y los entrenamientos en el deporte. Estos novedosos avances tecnológicos han permitido la recolección de datos en tiempo real de los jugadores o atletas en diferentes modalidades deportivas. Para la cuantificación de datos de carácter cinemático, las tecnologías utilizadas se dividen en dos grandes grupos: (a) dispositivos de seguimiento y (b) micro tecnología. Sin embargo, a pesar del aumento del número de sistemas de seguimiento electrónicos para la cuantificación de las cargas de trabajo en los deportistas, es crucial reconocer que el incremento significativo del número de partidos/competiciones desarrolladas en una misma temporada limita la recuperación de los deportistas y, por ende, aumenta el riesgo de sobreentrenamiento, enfermedad o lesión. Es esencial, por lo tanto, complementar la cuantificación de la carga externa mediante datos cinemáticos con la evaluación de marcadores de carga interna. Esto nos permitirá obtener una comprensión más completa del comportamiento del deportista ante la carga de trabajo y la competición, facilitando así estrategias más precisas para optimizar el rendimiento.

La bibliografía científica sobre que variables fisiológicas y cinemáticas de especial interés a tener en cuenta para cuantificar la carga de trabajo en deportistas profesiones masculinos de futbol sala es aún escasa, por consiguiente, la presente Tesis Doctoral, está dirigida a resolver esta problemática. Para ello, se han estructurado tres estudios interrelacionados. El objetivo del primer artículo es realizar una revisión de la literatura para explorar

el estado actual del arte sobre los principales biomarcadores empleados en la cuantificación de la fatiga en deportistas masculinos élite de equipo. El segundo artículo tiene por objetivo principal analizar los efectos de un calendario congestionado de partidos y entrenamientos en los niveles de proteína total, estado oxidante total (TOS), capacidad antioxidante total (TAC), índice de estrés oxidativo, y las concentraciones de Inmunoglobulina A salival (SIgA) en los jugadores de fútbol sala de élite, aclarando si estos biomarcadores son sensibles para detectar la fatiga aguda o crónica en los jugadores de fútbol sala de élite. Finalmente, el tercer artículo pretende analizar si existe una correlación entre los Biomarcadores analizados en el estudio anterior y los datos cinemáticos obtenidos por los sistemas de seguimiento electrónicos empleados en el estudio, con el fin de optimizar la gestión de recursos tanto en tiempo como en dinero destinados al control de la fatiga/rendimiento de los deportistas.

PARTE I.

MARCO TEÓRICO

1. Aumento del rendimiento deportivo a través de la programación y control de las cargas de trabajo

El concepto de "rendimiento deportivo" ha sido definido de diversas maneras a lo largo del tiempo. Su evolución histórica ha llevado a una visión más amplia e integral que incluye aspectos tácticos, físicos, psicológicos, fisiológicos, técnicos, sociales y comportamentales (1,2). En consecuencia, el rendimiento deportivo ha llegado a ser considerado un constructo multifactorial que requiere la consideración de múltiples elementos (3). En el contexto de los deportes colectivos, es crucial reconocer la preeminencia de ciertos factores sobre otros. En este sentido, una de las premisas fundamentales para optimizar el rendimiento deportivo en estas disciplinas radica en mejorar el rendimiento físico-deportivo de los jugadores (4,5). Esto se logra mediante cargas de entrenamiento específicas que, en conjunto con cargas de entrenamiento complementario, permiten que el deportista mantenga un estado físico óptimo (1). Como resultado, el atleta estará en condiciones de participar en el mayor número posible de competiciones a lo largo de toda la temporada en su disciplina deportiva (2).

Esta nueva perspectiva ha tenido un impacto tan significativo que ha transformado los enfoques tradicionales de la planificación en deportes colectivos, en comparación con sus concepciones iniciales (3). Anteriormente la preparación física de los deportistas en deportes como fútbol sala, balonmano, hockey o baloncesto se basaba en los principios utilizados en disciplinas individuales (2,3). La modulación de las cargas de entrenamiento seguía modelos clásicos de planificación deportiva, con el objetivo claro de alcanzar el pico de rendimiento en momentos clave de la temporada (3). No obstante, este enfoque clásico resulta inadecuado para la mayoría de los deportes colectivos, debido a que las temporadas competitivas son mucho más extensas y continuas (6). Por estas razones,

el paradigma del entrenamiento ha evolucionado hacia la optimización del rendimiento a lo largo de la temporada, mediante una planificación detallada de microciclos basada en el calendario competitivo (3).

Estos calendarios competitivos cada vez más saturados, especialmente en deportes colectivos que incluyen fases como los playoffs, requieren una gestión más rigurosa de las cargas de entrenamiento y competición. Este control es esencial para prevenir la acumulación de fatiga excesiva en los deportistas, lo que podría comprometer su rendimiento. Una planificación cuidadosa que ajuste las cargas a las exigencias de la temporada permite que los atletas desarrollen y mantengan sus cualidades en condiciones óptimas. De este modo, se favorece su rendimiento durante las competiciones, asegurando que se encuentren en el mejor estado posible para enfrentar los desafíos competitivos. Partiendo de esta nueva concepción del rendimiento deportivo, la presente tesis doctoral se enfoca en el análisis del rendimiento físico-fisiológico a través de indicadores de carga interna y externa, con el objetivo de lograr que el deportista alcance un estado físico óptimo para enfrentar las exigencias competitivas de la mejor manera posible.

1.1. Análisis del concepto de carga de trabajo y su impacto en la fatiga.

Para analizar y mejorar el rendimiento físico y fisiológico de un deportista a lo largo de su temporada competitiva, es fundamental cuantificar las cargas de trabajo a las que se somete tanto en competiciones como en entrenamientos. En los últimos años, el aumento significativo en el número de competiciones en los deportes colectivos élite han propiciado un desarrollo continuo en la investigación especializada en la gestión, control y optimización de las respuestas físico-fisiológicas de los deportistas. El

entrenamiento deportivo se define como un proceso sistemático en el que se ejecutan ejercicios con el propósito de mejorar tanto las capacidades físicas como las habilidades deportivas específicas (7). En este contexto, la carga de trabajo se considera la variable clave que se manipula para inducir las adaptaciones deseadas en el atleta. Esta carga representa el conjunto total de estímulos a los que se somete al deportista durante el entrenamiento y la competición (8). La carga puede clasificarse en interna o externa, diferenciando entre los parámetros mecánicos y cinemáticos del movimiento (carga externa) y el impacto que estos tienen en las demandas fisiológicas del atleta (carga interna). La cuantificación de estas cargas es fundamental para obtener datos objetivos sobre las adaptaciones físicas y fisiológicas del deportista (9). Esto es crucial, dado que la respuesta del atleta a un estímulo es específica según la naturaleza, intensidad, duración y la tarea realizada (10).

El diseño de la carga de trabajo se manifiesta en la carga externa, la cual es susceptible de ser modificada y programada según las necesidades específicas (11). Sin importar el método utilizado para cuantificar la carga, los entrenadores prescriben los entrenamientos basándose en la carga externa con el objetivo de lograr una respuesta fisiológica óptima (12). En este contexto, la carga externa se define como el estrés mecánico y locomotor experimentado por el atleta durante la actividad física (13), mientras que la carga interna se refiere a la respuesta biológica del cuerpo del atleta frente al estímulo de la carga externa, tanto en los entrenamientos como en la competición, considerando en aspectos fisiológicos (11). La organización, calidad y cantidad de la carga externa, es decir, el plan de trabajo, son determinantes en la carga total a la que está expuesto el deportista (8).

La gestión de las cargas de trabajo a lo largo de las sesiones de entrenamiento y competición es fundamental para aumentar y controlar el rendimiento físico, así como, para identificar y gestionar episodios de fatiga en el deportista. Existe una taxonomía muy diversa sobre la definición de fatiga, como consecuencia de su complejidad y su dificultad para hondar en un parámetro tan interdependiente. Sin embargo, en la literatura científica podemos observar diferentes definiciones sobre este término. Entre los principales autores que definen el concepto de fatiga encontramos la definición de Meeusen et al., (14) que distingue dos tipos de fatiga:

- **Sobre carga no funcional:** Se manifiesta como un cansancio intenso junto con una disminución notable del rendimiento deportivo que dura menos de un mes. Después, no verás ninguna mejora en el rendimiento físico.
- **Sobreentrenamiento:** Estado de fatiga intenso, con una disminución del rendimiento deportivo y una duración mayor a un mes.

No obstante, en la bibliografía científica encontramos otras definiciones con una mayor profundidad a nivel temporal, entre estos autores, se destaca la definición aportada por Hader et al., y Silva et al., (15,16):

- **Fatiga Aguda:** Ocurre durante o después de una dura sesión de ejercicio, entrenamiento o competición. Dependiendo de la intensidad del esfuerzo, puedes empezar a notarlo entre 8 y 72 horas después.
- **Fatiga residual:** Sucede cuando el deportista realiza uno o varios microciclos de carga de trabajo y las sesiones de recuperación y descanso son insuficientes al estrés fisiológico sufrido por el deportista.
- **Fatiga crónica:** Ocasiona en el deportista un estado de sobreentrenamiento permanente y una disminución del rendimiento

físico-fisiológico. Suele aparecer cuando han transcurrido varios microciclos en los que la carga de trabajo expuesta al deportista es mayor que la capacidad de recuperación fisiológica de su organismo. La principal diferencia que encontramos con la fatiga residual es su duración y una pérdida del rendimiento más acusada.

Por otro lado, otros autores definen este concepto dependiendo de su “lugar” de aparición. Autores como Ascensão et al., (17) clasifican la fatiga como fatiga central cuando afecta a las estructuras que se sitúan por encima de la placa motora y fatiga periférica cuando atañe a las estructuras situadas por debajo de la placa motora. La fatiga por tanto es un fenómeno de carácter tan complejo donde interfieren multitud de elementos que un control adecuado de la gestión de la carga de entrenaamiento atendiendo a las variables de carga externa y la respuesta fisiológica del deportista nos va a favorecer a los preparadores físicos y al staff técnico de un club deportivo evitar o gestionar los periodos de fatiga de sus deportistas. Consecuentemente, se requiere de un análisis multifactorial que involucre la integración de múltiples mecanismos de monitoreo y control de las cargas de trabajo, tanto a nivel externo como interno, que contribuya a identificar los episodios de fatiga del deportista.

2. Cuantificación de la carga de trabajo mediante indicadores de carga interna y externa

2.1. Procedimientos para la cuantificación de la Carga externa de trabajo.

El control de la carga de trabajo en el entrenamiento y la competición se está intensificando en los deportes de carácter élite. Hay un gran énfasis en desglosar el volumen, la intensidad y la frecuencia de las demandas,

especialmente cuando se trata de cómo estos factores se relacionan con la condición física de los jugadores y el riesgo de lesiones deportivas (18). Con el objeto de gestionar de manera adecuada las cargas de trabajo, necesitamos utilizar herramientas precisas para medir las variables físicas y fisiológicas del rendimiento (19). Esto es crucial porque los deportistas pueden responder de forma muy diferente a los retos a los que se enfrentan durante el entrenamiento y la competición (20).

La cuantificación de la carga externa puede desglosarse en dos categorías principales: (a) dispositivos de seguimiento y (b) microtecnología. La primera categoría, la Federación Internacional de Fútbol Asociación (FIFA) ha etiquetado recientemente todos estos sistemas como Sistemas Electrónicos de Rendimiento y Seguimiento (EPTS) (FIFA, 2019). Esto incluye: (1) sistemas ópticos (VID), (2) sistemas globales de navegación por satélite (GNSS) y (3) sistemas de posicionamiento local (LPS). Por otro lado, la segunda categoría presenta dispositivos microelectromecánicos, que abarcan acelerómetros, giroscopios y magnetómetros, junto con varios otros sensores. Respecto a la microtecnología lo componen dispositivos que incluyen acelerómetros, magnetómetros y giroscopios. En las próximas secciones se profundizará en cada uno de estos sistemas.

2.1.1 Dispositivos de seguimiento

2.1.1.1. Sistemas Ópticos

Fueron de los primeros métodos utilizados para el seguimiento de deportes de carácter interior y exterior. Este tipo de sistemas se basan en un sistema de cámaras que se encuentran colocadas alrededor del terreno de juego, cada cámara cubre una superficie concreta del terreno y posteriormente a través de un sistema de reconstrucción de vídeo análisis se integran todas

las grabaciones registradas durante el evento (21,22). Sin embargo, estos dispositivos presentan una serie de ventajas y desventajas que deben ser consideradas en función de las necesidades que se requieren en el análisis posterior de los datos obtenidos por el sistema.

- Permiten el seguimiento y el registro simultaneo de la información recaba de los jugadores y del balón a alta frecuencia.
- Son sistemas no invasivos para el jugador.

Presentan limitaciones respecto al seguimiento de varios jugadores de forma simultánea, sobre todo en situaciones de congestión donde hay varios jugadores por la misma zona del campo (23).

- Limitaciones en la comparación de datos entre las diferentes tecnologías debido a la falta de homogeneidad en el algoritmo utilizado por las diferentes empresas para procesar los datos (24).
- Sistema complejo en instalación y funcionamiento. La colocación de las cámaras, su calibración y orientación deben ser realizadas por un experto, lo que limita su colocación en múltiples terrenos de juego y encarece su coste (25).

2.1.1.2. Sistemas de Navegación por Satélite (GNSS)

Este sistema se originó inicialmente con un uso de carácter militar para el posicionamiento de objetos o personas mediante una triangulación satelital mediante radiofrecuencia (26). Actualmente, aunque común mente se conoce a esta tecnología como GPS, existen diferentes constelaciones de satélites dependiendo de las naciones de origen:

- GPS: Americano
- Galileo: Europeo
- GLONASS: Ruso

- Beidou: Chino
- QZSS: Japonés

Actualmente para su uso en materia práctica a pesar de contar con diferentes constelaciones de satélites solo GPS y GLONASS, disponen del número mínimo de satélites en órbita para ser usados de manera independiente (24 satélites), es por ello por lo que habitualmente los sistemas que utilizan esta tecnología para el posicionamiento del jugador o el atleta en un espacio determinado combinan los diferentes sistemas para mejorar la precisión del dato. Como se ha mencionado con anterioridad, este sistema calcula la posición del jugador mediante el uso de satélites, esta técnica de registro se denomina trigonometría. Para el cálculo ahora de la distancia y la velocidad existen dos métodos que utiliza este sistema: la diferencia de posicionamiento y el efecto Doppler.

Este primer método calcula la distancia mediante la diferencia posicional en cada señal, es decir, este método calcula la latitud y la longitud usando información de la distancia de cada satélite respecto al receptor y posteriormente triangula la posición, a partir de estas variables también puede obtenerse la velocidad en función de la distancia recorrida en un intervalo de tiempo (27). Por otro lado, el efecto Doppler calcula la velocidad a partir del cambio en la frecuencia aparente de una onda, causado por el movimiento relativo de los satélites con respecto al receptor, y obtiene la distancia multiplicando la velocidad por el tiempo (28). Este último método parece tener una mayor precisión, por tanto se recomienda su uso para el cálculo de la velocidad instantánea (29).

Al igual que en el apartado anterior, este tipo de tecnología presenta una serie de ventajas y limitaciones que se presentan a continuación:

- Las investigaciones han demostrado que, aunque se necesitan al menos 4 satélites para una conexión decente, la señal tiende a resentirse si sólo se está conectado a menos de 6 satélites (30).

- Se prescinde de un operador, por lo que el sistema es automático lo que facilita su uso y practicidad.
- No necesita de una instalación previa, lo que permite que se pueda utilizar en diferentes modalidades deportivas de exterior con una sencillez relativamente práctica.
- Nos permiten recolectar datos cinemáticos fisiológicos y mecánicos a diferencia de los sistemas ópticos que solo permiten la recolección de datos cinemáticos.
- La Dilución Horizontal de Satélites Conectados (HDOP) tiene que ver con la dispersión de los satélites. Cuando los satélites están muy juntos, el valor HDOP se dispara, lo que significa que la precisión se ve afectada. Por el contrario, cuando los satélites están más dispersos, el valor HDOP disminuye, lo que se traduce en una mayor precisión. Esta variable puede oscilar entre 0 y 50, considerándose ideal cualquier valor inferior a 1 (31).
- En lo que respecta a las condiciones climáticas y los edificios, ambos desempeñan un papel crucial en la calidad de los datos que recopilamos. Uno de los principales problemas es que los edificios pueden bloquear las señales enviadas por los satélites, que viajan en línea recta. Esto significa que las grandes estructuras de hormigón, como los estadios, o incluso simplemente el tiempo lluvioso o con niebla pueden interrumpir la comunicación entre el satélite y el dispositivo receptor (32)
- Respecto a la colocación del dispositivo en el atleta o jugador, el cuerpo puede interferir a veces con la señal. Para garantizar una mejor calidad de los datos, muchos estudios sugieren colocar el dispositivo a lo largo de la línea interescapular. Esto ayuda a minimizar el cuerpo del atleta como barrera para la recepción directa de la señal. Aunque,

la colocación del dispositivo dependerá de multitud de variables y objetivos (33).

2.1.1.3. Sistemas de Posicionamiento Local (LPS)

Los deportes de interior utilizan diferentes sistemas de posicionamiento, entre los que se pueden destacar los infrarrojos, ultrasonidos, tecnologías magnéticas, los sistemas de sonidos u ópticos, así como, los sistemas de radiofrecuencia (Wi-Fi, Bluetooth, ultra-banda ancha UWB y los sistemas de posicionamiento local o LPS) (34). Las diferentes tecnologías mencionadas con anterioridad aparecen como resultado de la incapacidad de monitorización de los sistemas de seguimiento por satélite en los espacios de interior. Entre estas tecnologías, la UWB destaca como la más avanzada, gracias a su precisión y eficacia (35). UWB funciona con una señal de radiofrecuencia con un ancho de banda superior a 500 MHz. Lo que implica que la UWB puede transmitir información a través de una amplia gama del espectro de frecuencias, lo que permite enviar grandes volúmenes de datos con un consumo mínimo de energía (34). En esta tesis doctoral, se utiliza el dispositivo WIMU PROTM para el posicionamiento de jugadores con tecnología UWB (Figura 1).

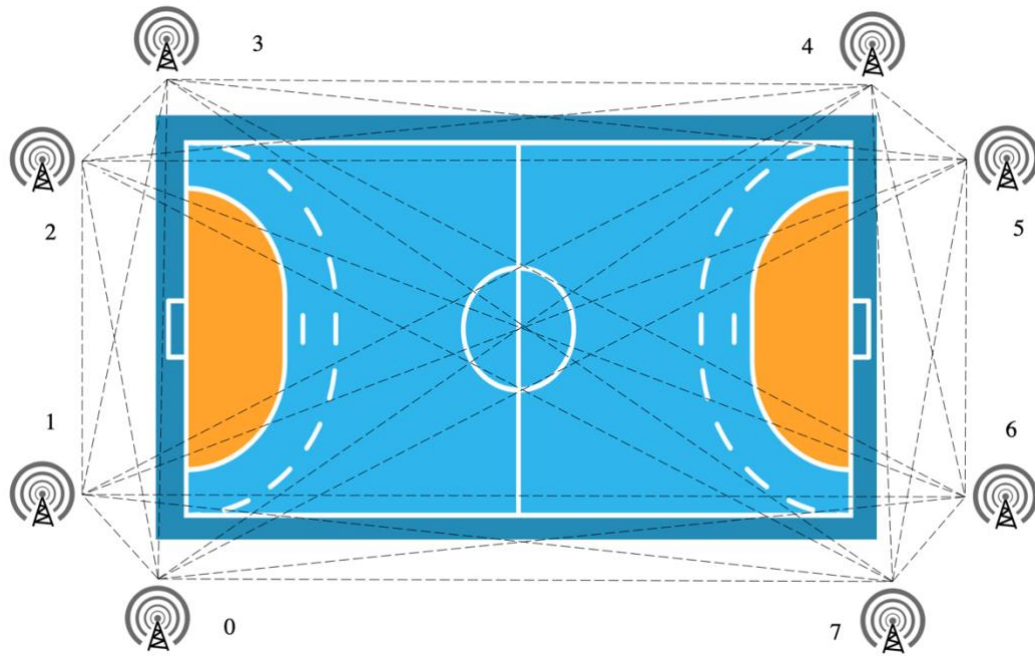


Figura 1. Representación gráfica de la de la disposición de los nodos (antenas) y su comunicación en un sistema de localización por radiofrecuencia, utilizando tecnología de ultra banda ancha (UWB) con un total de 7 antenas (elaboración propia)."

Para funcionar eficazmente, este sistema está basado en los mismos principios que los sistemas de navegación por satélite (radiofrecuencia), para simular los satélites, este sistema monta una serie de antenas portátiles o fijas alrededor del terreno de juego. Para el cálculo del posicionamiento el sistema utilizado en la presente tesis doctoral viene integrado con un algoritmo matemático que establece la posición del receptor a través del tiempo de diferencia de llegada. Este algoritmo parece ser más preciso que el resto de algoritmos y dispositivos del mercado gracias a un mejor tiempo de resolución (36).

Este tipo de tecnología al igual que las anteriores presenta una serie de ventajas y consideraciones a tener en cuenta que deben considerarse antes de su implementación:

- Una mayor tasa de muestreo, que permite obtener mediciones más válidas y fiables en deportes colectivos e individuales (37).
- Gran versatilidad de uso, este sistema puede utilizarse tanto en interiores como en exteriores, mediante antenas fijas o móviles (37).

- Presenta una alta precisión en la localización, el margen de error es inferior a 10 cm (38).
- Gracias a la precisión en los datos de posicionamiento, se pueden obtener datos para optimizar el análisis táctico en deportes colectivos (38).
- La fiabilidad del sistema varía según el método de posicionamiento utilizado, siendo tiempo de diferencia de llegada el método más exacto (36).
- La cobertura de los dispositivos oscila entre 50 y 250 metros y la resolución varía de 10 a 100 Hz, por lo que es necesario seleccionar el sistema adecuado para cada tipo de deporte (34).
- Latencia en la actualización de datos: Si no se optimiza el sistema, la latencia en la actualización de los datos puede generar retrasos en la modificación de la posición (39).
- La presencia de estructuras metálicas puede afectar la señal (40).

2.1.2. Microtecnología

La microtecnología se basa en una serie de microsensores de un tamaño reducido y que se utilizan para la captación de estímulos externos. Dentro de los microsensores más utilizados por la industria podemos destacar los acelerómetros (diseñados para medir la aceleración en uno, dos o incluso tres ejes, expresan los datos en metros por segundo al cuadrado (m/s^2) o en términos de fuerza g (41), magnetómetros (utilizados para cuantificar la fuerza o dirección de un campo magnético de un objeto μT) (42) y los giróscopos (miden, mantienen o ajustan la orientación de un objeto en el espacio mediante la detección de la velocidad angular a través del principio de Coriolis, expresándose en grados por segundo $^\circ/s$) (43) utilizados habitualmente de forma conjunta o separada en unidades identificadas como sensores

microelectromecánicos. Cuando estos sensores se combinan y se integran en dispositivos con tecnologías de seguimiento como GNSS / LPS se denominan dispositivos inerciales (IMUs) (44).

Gracias a su alta tasa de frecuencia de muestro este tipo de sensores son utilizados de forma habitual por los élite de ciencias del deporte para la cuantificación de las cargas de trabajo en los deportes colectivos e individuales (20,44). Dentro de los deportes colectivos habitualmente se han utilizado para la detección de acciones técnicas individuales para su posterior análisis y para la cuantificación de la carga acumulada. Respecto a la cuantificación de la carga acumulada tanto en entrenamiento como en competición, esta cuantificación se lleva a cabo mediante distintas fórmulas específicas desarrolladas por los fabricantes de dispositivos inerciales, entre las cuales destaca el índice PlayerLoad™, por su amplia aceptación y utilización en la práctica deportiva (45). A pesar de su uso extendido, debemos de tener en cuenta una serie de consideraciones para una buena praxis de los instrumentos utilizados:

- La frecuencia de muestro de estos microsensores es un factor determinante para el posterior análisis de los datos. Una tasa de frecuencia de muestro alta se utiliza habitualmente cuando el movimiento a evaluar se realiza en un periodo muy corto de tiempo, no obstante, ante periodos largos de medición la frecuencia de muestro suele disminuir debido al volumen que ocupa en el almacenamiento y a la presencia de datos irrelevantes o redundantes. Actualmente investigaciones recientes sitúan una frecuencia de muestro entorno a los 100 Hz como una frecuencia adecuada para el registro de la carga externa.
- Estos dispositivos están diseñados para detectar acciones externas específicas en el objeto o segmento corporal al que se adhieren. En consecuencia, la ubicación inadecuada del dispositivo o sensor puede conllevar una estimación errónea de la carga del deportista.

- Asegurar que el microsensor se utilice para el registro de datos este se debe encontrar en condiciones óptimas de funcionamiento. Para ello, debe existir una correcta calibración del dispositivo, lo que implica que el acelerómetro, en reposo, registre valores de 1 ± 0.01 G, el giróscopo muestre 0 ± 0.30 °/s, y la suma vectorial de los tres ejes del magnetómetro no presente oscilaciones superiores a 100 unidades durante la rotación; y que el sensor alcance una temperatura óptima de operación, situada entre los 32 y los 40 grados centígrados.
- El procesamiento de la información obtenida a través de los microsensors constituye un aspecto fundamental, especialmente cuando se comparan las mediciones obtenidas entre distintos dispositivos. Es posible que dos marcas comerciales utilicen el mismo modelo de acelerómetro, no obstante, el algoritmo utilizado para el procesamiento de los datos puede dar lugar a discrepancias en los valores finales registrados, comprometiendo así la comparabilidad entre sistemas.

2.2. Procedimientos para la cuantificación de la Carga Interna de trabajo.

2.2.1 Variables subjetivas

La carga interna representa la respuesta fisiológica del organismo ante los estímulos generados por la carga externa, esta respuesta puede medirse a través de marcadores objetivos como métodos subjetivos (46). Dentro de los métodos y herramientas más utilizadas para valorar carga interna en un deportista destaca el índice de esfuerzo percibido (RPE, por sus siglas en inglés), convirtiéndose en un recurso útil para interpretar posibles estados de fatiga. No obstante, un reciente metaanálisis de la literatura científica señala

que, aunque el RPE es un indicador válido para estimar la intensidad del ejercicio, su fiabilidad podría ser menor, especialmente en actividades de alta intensidad y corta duración con carácter acíclico, como el fútbol sala (47). En su defecto, la literatura científica sugiere que es más interesante el uso de herramientas como medidas de autoinforme del atleta (ASRM), perfil de estados de ánimo (POMS), evaluación del estado diario y niveles de adaptación (DALDA), recuperación total de calidad (TQR), cuestionario de recuperación-estrés (REST-Q) que nos permiten una autoevaluación del atleta más detallado y nos permiten un control del bienestar de los deportistas de equipo(46,48–53). Su principal inconveniente radica en el tiempo necesario para rellenar todo el cuestionario, generando un uso diario en deportes de equipo complejo de asumir y en la subjetividad de las respuestas, lo que hace necesario que deban ser complementados con datos de carácter fisiológico (54).

2.2.2 Variables fisiológicas

Dentro los métodos objetivos empleados para monitorizar la carga interna, las variables relacionadas con la frecuencia cardiaca son habitualmente empleadas en la evaluación de la fatiga en deportes colectivos. Entre estas variables destacan la frecuencia cardíaca submáxima, la variabilidad de la frecuencia cardíaca (HRV), Root Mean Square of Successive Differences (RMSSD) y el índice de recuperación cardíaca (HRR). Cada una de estas variables proporciona información específica y complementaria sobre el estado funcional del sistema cardiovascular, permitiendo una evaluación más completa del impacto de la carga externa de entrenamiento /competición sobre las variables de índole fisiológico.

La frecuencia cardíaca submáxima, es utilizada de forma habitual para valorar la respuesta cardiovascular ante un estímulo físico constante, las disminuciones de la frecuencia cardiaca o su reducción progresiva a lo largo

del tiempo se ha asociado con una mejora en la eficiencia del sistema aeróbico o en la capacidad aeróbica, mientras que descensos repentinos o valores anómalamente bajos podrían reflejar un síntoma de fatiga acumulada especialmente cuando estos valores no van acompañados de mejoras en el rendimiento deportivo (55). Ahora bien, a pesar de que este fenómeno pueda aparecer debido a una carga excesiva soportada por el deportista, este único valor por sí mismo, no puede explicar un fenómeno tan complejo como es la fatiga, en el cuál otros factores pueden estar interfiriendo en los valores reflejados por el deportista como cambios en las condiciones climáticas, la altitud a la que nos encontramos, sobre activación del sistema nervioso parasimpático o cambios en el volumen plasmático entre otros (46,48,56). Por otra parte, HRV se refiere a las fluctuaciones de tiempo en los intervalos entre latidos cardíacos consecutivos (intervalos RR) siendo una de las herramientas más sensibles para evaluar el equilibrio entre las ramas simpática y parasimpática del sistema nervioso autónomo (57,58). Valores elevados de HRV en reposo suelen estar relacionados con una buena capacidad de recuperación y una adaptación positiva al entrenamiento, mientras que una reducción sostenida puede indicar una respuesta negativa al estímulo, estrés fisiológico o fatiga. No obstante, a pesar de que una alta HRV parece ser un buen indicador del estado de adaptación del deportista a la carga de entrenamiento recibido, estudios previos nos sugieren que la recogida de estos datos se utilice con promedios semanales, aportando una mayor conocimiento del estado del deportista que las mediciones puntuales y espaciadas en el tiempo (59). Además, entre las distintas formas de cuantificar la HRV, el RMSSD ha cobrado especial relevancia debido a su especificidad para reflejar la actividad parasimpática, este índice permite detectar cambios sutiles en la condición fisiológica del deportista al analizarse mediante promedios de varios días, convirtiéndose en una herramienta robusta para el control del estado autonómico. Finalmente, HRR evalúa la velocidad con la que la frecuencia

cardíaca disminuye tras el cese del ejercicio, constituye un indicador clave del tono parasimpático y la capacidad del organismo para volver a un estado de homeostasis. Una recuperación rápida, se asocia de forma habitual con un sistema autonómico eficiente y un estado de fatiga bajo o moderado, mientras que una recuperación lenta puede sugerir disfunción del sistema nervioso autónomo, fatiga residual o una respuesta excesiva al entrenamiento agudo (60,61). Aunque su uso se ha extendido sobre todo en deportes de resistencia, investigaciones recientes han comenzado a explorar su aplicabilidad en deportes de equipo, donde las demandas intermitentes y los picos de intensidad requieren estrategias de recuperación específicas (59,62). En conjunto, la evaluación sistemática y combinada de la frecuencia cardíaca submáxima, la HRV, el RMSSD y el HRR permite una comprensión más integral del estado fisiológico del atleta, facilitando decisiones más informadas sobre la dosificación del entrenamiento, la gestión del descanso y la prevención de posibles alteraciones en el rendimiento.

2.2.3 Biomarcadores bioquímicos, hormonales e inmunológicos

En el deporte de alto rendimiento, la monitorización de la carga interna de los deportistas se ha convertido en una herramienta clave para evaluar el impacto de la carga externa de entrenamiento y competición en la respuesta fisiológica de cada deportista. En este sentido, el análisis de ciertos biomarcadores bioquímicos, hormonales e inmunológicos han adquirido un papel fundamental proporcionando datos objetivos sobre el estado de recuperación y la adaptación del organismo a las demandas del ejercicio (11). Estos biomarcadores de carácter fisiológico permiten detectar posibles desequilibrios en los procesos internos que podrían derivar en un rendimiento subóptimo, sobreentrenamiento o mayor susceptibilidad a lesiones e

infecciones, especialmente en deportes con alta exigencia física y calendarios competitivos densos, como los deportes colectivos de interior.

Dentro de los biomarcadores de origen bioquímico, destacan especialmente la creatina quinasa (CK) y la lactato deshidrogenasa (LDH), utilizados como indicadores del grado de daño muscular inducido por el ejercicio (11). Los niveles de CK en plasma considerados normales pueden oscilar entre 200 y 250 u/l, siendo los incrementos superiores a 500 u/l los que son vinculados con un daño muscular significativo (63,64). A pesar de su uso extendido en la literatura científica (65–68), la fiabilidad de ambos marcadores puede verse comprometida por su elevada variabilidad interindividual, la influencia de factores como la genética, el tipo de entrenamiento realizado o la ventana de tiempo donde se toman las muestras (69). Por ejemplo, la CK alcanza su pico entre 5 y 7 días tras el estímulo físico, por tanto, el posterior análisis e interpretación de los datos obtenidos está fuertemente condicionado por el momento específico en que se recolectaron las muestras, así como, por la distribución de la carga de entrenamiento durante los días previos (70).

En cuanto a los marcadores hormonales, la testosterona (T) y el cortisol (C) han sido ampliamente explorados en deportes de carácter individual y colectivo por su capacidad para reflejar los procesos anabólicos y catabólicos, respectivamente (51,67,71). Su medición, ha ido evolucionando con el paso del tiempo, con el objeto de poder recolectar el mayor número de muestras del deportista y evitar que estas supongan ser muy invasivas con el deportista. Actualmente las muestras se suelen obtener mediante muestras salivales no invasivas, implementándose como una forma accesible de evaluar el estado endocrino del deportista (72). No obstante, interpretar estos valores por separado puede resultar complejo y equívoco, debido a su sensibilidad a factores ambientales, emocionales y de cronobiología. Como consecuencia la relación T/C se ha propuesto como un índice más robusto, capaz de reflejar de forma integrada el equilibrio entre ambos biomarcadores en el perfil fisiológico

del deportista (73–75). Cuando observamos una disminución sostenida de este ratio, puede indicar que el deportista se encuentra en un estado de sobrecarga funcional, mientras que una elevación desproporcionada podría reflejar un entrenamiento insuficiente o incluso que el deportista se puede encontrar inverso en procesos patológicos (73–75). No obstante, este parámetro tampoco está exento de limitaciones y debe ser interpretado siempre en conjunto con otros indicadores, considerando las particularidades del deporte practicado y las características individuales del atleta (71,76).

En el ámbito inmunológico, la inmunoglobulina A salival (SIgA) ha emergido como un marcador clave para el monitoreo de la función inmunitaria de las mucosas, especialmente en lo que respecta a la prevención de infecciones del tracto respiratorio superior (77). La SIgA, que actúa como primera línea de defensa frente a patógenos, ha demostrado disminuir en condiciones de estrés físico crónico, lo que ha llevado a considerarla un indicador sensible para detectar cargas externas de entrenamiento extenuantes o falta de tiempo necesario de recuperación por parte del deportista (77–80). Sin embargo, la interpretación de sus niveles también debe realizarse con cautela, debido a que estos niveles son propios de cada atleta los cuales presentan una gran variabilidad intra e interindividual, además, suelen fluctuar en función del tipo de ejercicio, el estado nutricional, el nivel de hidratación, e incluso el estrés psicológico que tiene el atleta (79–82). A pesar de estas limitaciones, su utilidad como predictor de riesgo infeccioso y sobreentrenamiento se ha evidenciado en deportes de alta demanda física, donde la exposición a cargas elevadas sin periodos adecuados de recuperación puede comprometer la inmunocompetencia del atleta (83,84). En disciplinas deportivas como el fútbol sala, donde la literatura aún es escasa, su implementación requiere estudios adicionales que validen su efectividad en estos contextos específicos.

Otro aspecto fisiológico relevante relacionado con el ejercicio es el estrés oxidativo, diversas investigaciones han demostrado que la práctica de ejercicio físico de alta intensidad conlleva un aumento significativo en la generación de radicales libres, lo que puede desencadenar un estado de estrés oxidativo, una condición fisiológica alterada con múltiples implicaciones (85,86). Este desequilibrio está vinculado con procesos de deterioro celular, afectando estructuras fundamentales como lípidos, proteínas y DNA (87). Asimismo, este estrés oxidativo genera perturbaciones del sistema inmunológico (88), desarrollo de lesiones musculares (86) y la aparición de síntomas de fatiga prolongada (14). Para estudiar este proceso, se han introducido marcadores específicos como la albúmina modificada por isquemia (IMA), asociada a procesos inflamatorios y daño isquémico (89,90), así como los productos de oxidación avanzada de proteínas (AOPP), que reflejan el daño oxidativo sistémico (91,92). A ello se suman los niveles de glutatión en sus formas reducida (GSH) y oxidada (GSSG), ampliamente utilizados para evaluar el estado de sobreentrenamiento (93). Aunque estos marcadores son útiles, su análisis requiere equipamiento especializado y puede no ser viable en contextos deportivos cotidianos debido a su coste y complejidad técnica. Sin embargo, su uso en investigaciones ha permitido observar cómo los periodos de alta carga competitiva como los periodos congestionados en momentos clave de la temporada como los playoff pueden incrementar la respuesta oxidativa en deportes colectivos como el fútbol sala, lo que subraya la necesidad de un control adecuado del entrenamiento y la recuperación (94,95).

A pesar de las limitaciones logísticas y el coste económico que conlleva la evaluación periódica de estos biomarcadores, así como, la necesidad de personal cualificado y el uso necesario de instalaciones adecuadas para su posterior análisis y la dificultad de interpretar datos individuales en contextos grupales, su integración en los programas de seguimiento del deportista es fundamental para optimizar la planificación del entrenamiento. Especialmente

en deportes de equipo de interior, caracterizados por calendarios comprimidos que pueden incluir varios partidos por semana, un monitoreo exhaustivo del estado fisiológico resulta esencial para prevenir estados de fatiga crónica, disminuir la probabilidad de lesiones y mantener altos niveles de rendimiento a lo largo de la temporada (11,48,96). En resumen, la evaluación de biomarcadores bioquímicos, hormonales e inmunológicos permite una aproximación más precisa y multifactorial al estudio del estado de carga, fatiga y recuperación de los deportistas. Su aplicación, siempre en combinación con otros métodos de cuantificación de la carga interna y externa, constituye un enfoque integral que puede marcar la diferencia en la gestión del rendimiento deportivo y la salud a largo plazo de los atletas.

PARTE II.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

OBJETIVO GENERAL

Tras contextualizar el estado del arte actual sobre el control de las variables de carga externa e interna para la cuantificación de las cargas de trabajo con el objetivo de monitorear los niveles de fatiga y rendimiento en el deportista, la presente tesis doctoral se desarrollará a través de tres estudios de investigación teóricos y prácticos, con el **objetivo general de analizar el rendimiento en situaciones de entrenamiento y/o competición en deportes colectivos, mediante indicadores de rendimiento interno.**

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para su desarrollo de forma lineal se establecieron una serie de objetivos específicos a abordar en cada estudio:

Estudio I

- Determinar los principales biomarcadores utilizados en atletas élite de deportes de equipo para detectar la fatiga derivada de las cargas de entrenamiento o de partido.

Estudio II

- Comparar las exigencias a nivel de carga interna objetivas entre las distintas fases del entrenamiento y/o competición.
- Analizar los efectos de un calendario de partidos y entrenamientos congestionado sobre los niveles de proteína total, TOS, TAC, índice de estrés oxidativo y las concentraciones de SIgA en jugadores de fútbol sala de élite, aclarando si estos biomarcadores son sensibles para detectar la fatiga aguda en jugadores de fútbol sala de élite.

Estudio III

- Evaluar la capacidad predictiva de diversas variables extrínsecas reportadas por los sistemas LPS sobre el “Player Load” entre los jugadores elite de fútbol sala durante un período de congestión.
- Identificar, sintetizar y analizar críticamente las variables de carga interna objetivas y externas objetivas que determinan en mayor medida el rendimiento en situaciones de entrenamiento y/o competición en deportes colectivos.
- Examinar la relación entre estas variables de carga externa y los marcadores de carga interna, específicamente SIgA, TP, TOS y TAC, con el fin de evaluar la variabilidad individual en respuesta al estrés físico aplicado

PARTE III.

METODOLOGÍA

1. METODOLOGÍA ESTUDIO I

1.1 Diseño

El presente estudio es una revisión sistemática que se llevó a cabo siguiendo las directrices PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) (97,98). PRISMA ayuda a recopilar la información más importante sobre un tema, haciéndolo más práctico y aplicable. De este modo, los lectores pueden acceder a los conocimientos más recientes y útiles en un campo en constante cambio.

Estrategia de búsqueda. Para esta revisión sistemática, consultamos las siguientes bases de datos electrónicas: PubMed, Scopus, SportDiscus y Web of Science. Seleccionamos estas bases de datos por ser recursos completos que indexan la literatura sobre ciencias del deporte, lo que permite el acceso a artículos específicos del dominio relevantes para el tema de la revisión (99). La búsqueda se realizó el 22 de diciembre de 2023 utilizando los operadores booleanos "AND" y "OR" para combinar las palabras clave: " ("elite" OR "professional") AND ("team sport*") AND ("physiological" OR "immunological" OR "bio-chemical" OR "hormonal") AND ("fatigue" OR "performance" OR "recovery" OR "stress" OR "wellness")".

La Figura 2 presenta los resultados del proceso de búsqueda mediante un diagrama de flujo. También revisamos las listas de referencias de los estudios incluidos para identificar artículos adicionales relevantes. Cualquier desacuerdo sobre la inclusión de estudios se resolvió por consenso entre dos investigadores (A.S.-L. y C.D.G.-C.), y en caso necesario, con la mediación de un tercer investigador (J.P.-O.).

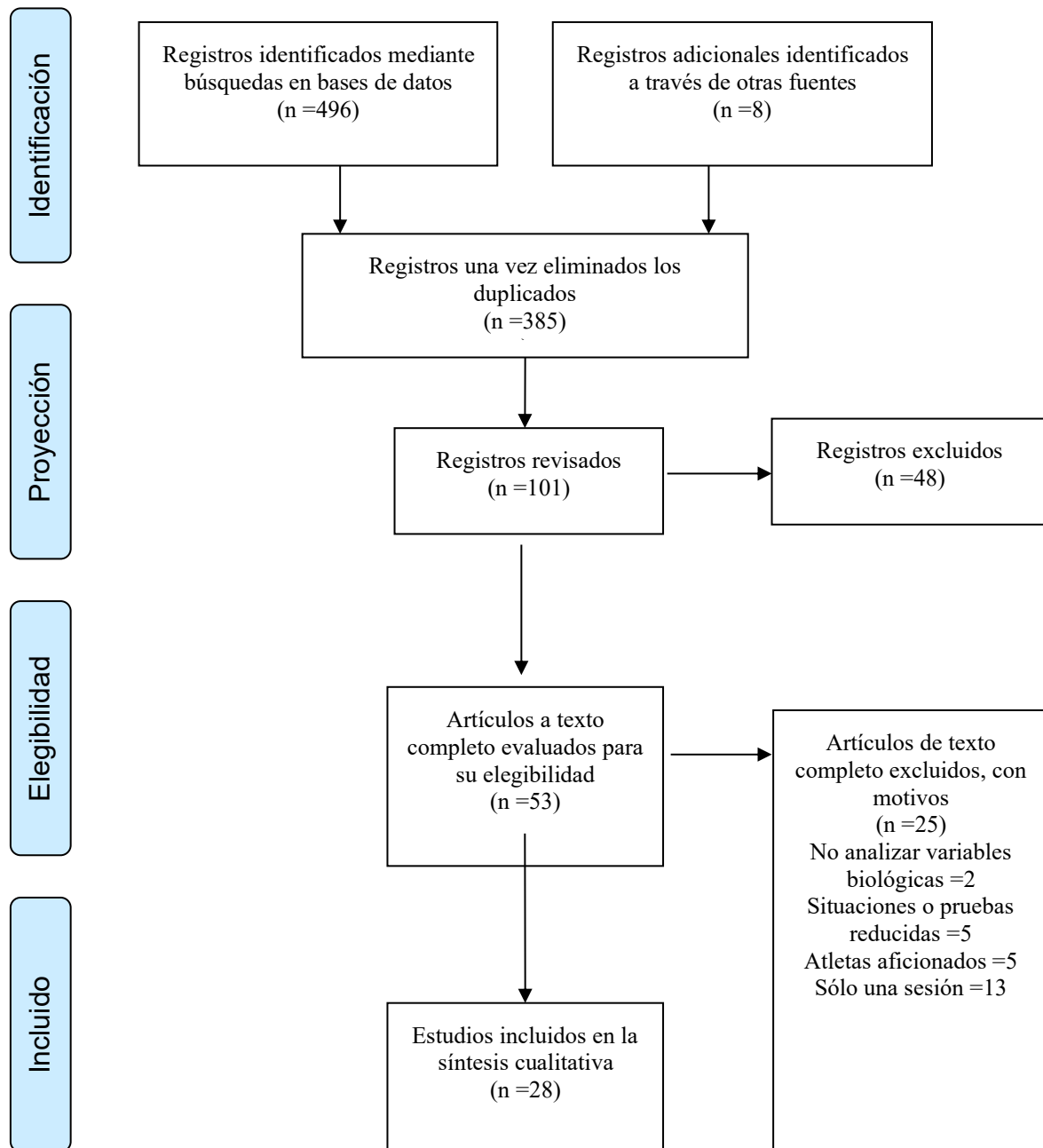


Figura 2. Diagrama de flujo PRISMA.

1.2. Criterios de inclusión y exclusión

La selección de estudios para esta revisión se basó en criterios específicos relacionados con la notificación y medición de biomarcadores. Los criterios de inclusión de los artículos fueron (1) estudios que informaran sobre

al menos una de las siguientes categorías de biomarcadores: (a) hormonas anabólicas/catabólicas musculares (por ejemplo, testosterona, cortisol), (b) marcadores de daño muscular (por ejemplo, creatina quinasa, lactato deshidrogenasa), (c) marcadores inmunológicos (por ejemplo, inmunoglobulina A salival, función celular inmunitaria), (d) marcadores de estrés oxidativo (por ejemplo, especies reactivas del oxígeno, capacidad antioxidante), y (e) marcadores inflamatorios (por ejemplo, proteína C reactiva, citoquinas); (2) una descripción clara de los métodos de adquisición de biomarcadores, incluyendo (a) tipo de muestra (por ejemplo, sangre, saliva, orina) (b) puntos temporales de muestreo (por ejemplo, antes del ejercicio, después del ejercicio, durante la recuperación), y (c) técnicas analíticas utilizadas (por ejemplo, ELISA, espectrofotometría); (3) estudios realizados en deportistas masculinos de élite o profesionales de deportes de equipo; (4) datos de biomarcadores recogidos en partidos oficiales y/o sesiones de entrenamiento; y (5) estudios longitudinales o que analicen más de un partido oficial de competición o sesión de entrenamiento. Por otro lado, los criterios de exclusión fueron (1) estudios sobre atletas aficionados o jóvenes; (2) escenarios de ejercicio simulados o basados en laboratorio; (3) estudios que no proporcionaban detalles adecuados sobre los métodos de medición de biomarcadores; (4) mediciones de un único punto temporal sin tener en cuenta los cambios a lo largo del tiempo; (5) estudios centrados únicamente en biomarcadores no relacionados directamente con la fatiga o la recuperación (p. ej., marcadores nutricionales); y (6) documentos como tesis, libros o revisiones sistemáticas (excluidos sólo como fuente bibliográfica, no de la sistematización). El año mínimo de publicación fue 2000, ya que las revisiones anteriores lo señalaron como punto de partida.

1.3. Estrategia de cribado y selección de estudios

Un investigador (A.S.-L.) realizó las búsquedas, identificó los estudios pertinentes y extrajo los datos de forma estandarizada y desglosada. El proceso de revisión siguió las directrices Prisma (97) y las recomendaciones para las revisiones sistemáticas de las ciencias del deporte (72) (Figura 2). Los artículos extraídos se organizaron mediante una base de datos de Microsoft Excel (versión 16.78, Microsoft, Redmond, WA, EE.UU.) en la que se detallaban la base de datos, las palabras clave, los identificadores del artículo y el año de publicación. Se revisaron los artículos y se eliminaron los duplicados. A continuación, se leyeron los títulos y resúmenes de los artículos restantes, y se descartaron los que no guardaban relación con el tema. Cuando fue necesario, se leyó el texto completo para verificar el cumplimiento de los criterios de elegibilidad y juzgar la relevancia del artículo. Tras este proceso, se seleccionó un total de 28 artículos. Los datos se analizaron y tabularon teniendo en cuenta variables contextuales como el tipo de deporte (fútbol, baloncesto, voleibol o balonmano), el tipo de evento (partidos o entrenamiento) y el tipo de variable biomedida (fisiológica, inmunológica, bioquímica u hormonal).

1.4. Calidad de los estudios

Dos autores (A.S.-L. y C.D.G.-C.) evaluaron el riesgo de sesgo de información mediante la lista de comprobación del Índice Metodológico para Estudios No Aleatorizados (MINORS) (100). MINORS consta de doce ítems, cuatro de los cuales sólo son aplicables a estudios comparativos. Cada ítem se puntúa con 0 cuando el criterio no se comunica en el artículo, con 1 si se comunica, pero no se cumple suficientemente, o con 2 cuando se cumple adecuadamente. Las puntuaciones más altas indican una buena calidad

metodológica del artículo y un bajo riesgo de sesgo. Por lo tanto, la máxima puntuación posible es 16 para los estudios no comparativos y 24 para los estudios comparativos. El MINORS ha proporcionado una fiabilidad inter e intra evaluadores, consistencia interna, validez de contenido y validez discriminante aceptables (100,101).

2. METODOLOGÍA ESTUDIO II

2.1. Planteamiento experimental del problema

El objetivo de esta investigación era examinar las respuestas de varios biomarcadores salivales (proteína total, SIgA, TAC, TOS e índice de estrés oxidativo) y sus relaciones con las cargas de entrenamiento y de partido en jugadores de fútbol sala de élite durante un periodo congestionado de la temporada precompetitiva. Los participantes proporcionaron muestras de saliva en reposo aproximadamente 10 min antes del calentamiento previo a la sesión (PRE), mientras que las muestras de saliva posteriores a la sesión se recogieron 40 min después de la conclusión de la sesión (POST). Durante el periodo de estudio, los mejores jugadores de fútbol sala participaron en un total de veintiuna sesiones, que incluían dieciséis entrenamientos y cinco partidos no oficiales. Las sesiones de entrenamiento se diseñaron para combinar el entrenamiento técnico táctico (TT) con el entrenamiento físico (PT) a lo largo de la pretemporada. El PT se combinó con el TT en el campo, y cada sesión de entrenamiento duró unos 100-120 minutos, sin contar el tiempo dedicado al calentamiento y al enfriamiento. El volumen y la intensidad tanto del TT como del PT se mantuvieron bastante constantes en todas las sesiones de entrenamiento. Sin embargo, el número de sesiones de entrenamiento realizadas por semana varió entre las semanas de pretemporada (véase la Tabla 1). Es importante señalar que esta investigación tuvo lugar durante el

periodo de pretemporada, y que no se celebraron partidos oficiales durante las 4 semanas de duración de este estudio.

Tabla 1. Entrenamiento, calendario repleto de partidos y toma de muestras de saliva durante la pretemporada.

Semana	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
1	Sesión 1	Sesión 2	Sesión 3	Sesión 4	Sesión 5		-
	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT		
2	Sesión 6	Sesión 7	Sesión 8	Sesión 9	Sesión 10	Sesión 11	-
	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT	FM	
	SS1			SS2		SS3	
3	Sesión 12	Sesión n 13	Sesión 14	Sesión 15	-	Sesión 16	-
	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT		FM	
	SS4			SS5		SS6	
4	Sesión 17	Sesión 18	Sesión 19	Sesión 20	-	Sesión 21	-
	FM	TT // PT	FM	TT // PT		FM	
	SS7	SS8	SS9	SS10		SS11	

Notas: PT = entrenamiento físico; SS = muestra salival; TT = entrenamiento técnico táctico; FM = partido amistoso.

2.2. Sujetos

Este estudio empleó un método de muestreo por conveniencia, reuniendo a 17 jugadores del mismo club de fútbol sala de élite de Portugal. Los jugadores tenían una edad promedio de 23,07 años (con una desviación típica de 6,76 años), una altura promedio de 1,75 metros ($\pm 0,06$ m) y una masa corporal promedio de 75,47 kg ($\pm 7,47$ kg). En promedio, tenían una experiencia de juego de élite de aproximadamente 5,38 años ($\pm 2,03$ años). Antes del inicio de este estudio, todos los jugadores participantes se familiarizaron con los objetivos, procedimientos, requisitos, riesgos potenciales y beneficios de la investigación. Los atletas se ofrecieron voluntarios para participar y fueron informados sobre el protocolo de investigación, proporcionando posteriormente su consentimiento informado por escrito. Los criterios de exclusión fueron los siguientes (i) cualquier lesión reciente que requiriera atención médica; y (ii) consumo de medicamentos antiinflamatorios o suplementos antioxidantes durante el periodo de estudio. Este estudio recibió la aprobación del comité de

ética de la investigación del instituto (ID: 3495/2021) y se adhirió a las recomendaciones éticas para la investigación con participantes humanos, como se indica en la Declaración de Helsinki (2013).

2.3. Recogida de saliva

Se les solicitó a los participantes que evitaran comer o beber cualquier producto con cafeína durante al menos dos horas antes de proporcionar sus muestras de saliva. Para comenzar, se enjuagaron la boca con agua destilada para eliminar cualquier contaminante que pudiera afectar los niveles de SIgA. Los participantes mantuvieron una posición sentada con los ojos abiertos y la cabeza ligeramente inclinada hacia delante, y se les indicó que masticaran una esponja durante 1 minuto antes de expulsar la saliva en tubos estériles. Para minimizar la influencia de la variación diurna, todas las sesiones de entrenamiento tuvieron lugar por la tarde, a partir de las 19.00 horas, con una temperatura ambiente que oscilaba entre los 24 y los 27° C. Las muestras de saliva se recogieron utilizando hisopos de fibra sintética y tubos específicos (tubos Salivette Cortisol, Sarstedt AG & Co., KG, Nümbrecht, Alemania) (Figura 3). Las muestras de saliva recogidas se almacenaron a -80° C hasta su posterior análisis.



Figura 3. Representación gráfica de los tubos estériles utilizamos para recoger las muestras de saliva *(elaboración propia)*

2.4. Ensayos

2.4.1. Inmunoglobulina A Salival

Las concentraciones de SIgA se cuantificaron mediante un kit de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (kit de inmunoensayo indirecto de IgA secretora salivar, Salimetrics, State College, PA, EE. UU.). Las muestras de saliva se sometieron a un meticuloso proceso analítico: inicialmente, se prepararon los reactivos según las instrucciones del fabricante y se dispuso la placa para ensayos por duplicado de las muestras de saliva. Las tiras necesarias se guardaron en el soporte, mientras que las tiras restantes se almacenaron a 2-8 °C. Posteriormente, se pipetearon 3 ml de diluyente de SIgA 1X en un tubo, ajustando el volumen cuando no se utilizaba toda la placa. Para

la preparación de las muestras, se etiquetaron los tubos para cada muestra y se añadieron 100 μ L de diluyente, seguidos de 25 μ L de saliva y se agitó en vórtex. En tubos separados de 5 mL, se añadieron 4 mL de diluyente y se pipetearon 10 μ L de estándares, controles y muestras de saliva diluidas, junto con 10 μ L de diluyente al tubo cero. El conjugado de enzima anticuerpo se diluyó 1:120 y se añadieron 50 μ L a cada tubo, seguido de una incubación de 90 min. Después de la incubación, 50 μ L de cada tubo se transfirieron a los pocillos de placa designados, con 50 μ L de diluyente añadidos a los pocillos en blanco. La placa se mezcló durante 90 min, se lavó 6 veces con tampón de lavado 1X y luego se añadieron 50 μ L de solución de sustrato TMB a cada pocillo, seguido de una incubación de 40 min en oscuridad. Finalmente, se añadieron 50 μ L de solución de parada a cada pocillo, asegurando el cambio de color, y la densidad óptica se leyó a 450 nm en 10 min. Para mayor precisión se consideró una corrección de filtro secundario de 490 a 492 nm.

2.4.2. Cuantificación de biomarcadores de estrés oxidativo

Dado que los antioxidantes reducen los oxidantes, el método TAC se basa en la medición de la capacidad reductora de los antioxidantes de la muestra en comparación con un antioxidante de control, Trolox, que se utiliza como calibrador. En concreto, el método FRAP (ferric reducing antioxidant power) mide la reducción del complejo férrico tripiridiltriazina del reactivo utilizado al ferroso (Fe^{II}) a pH bajo. Esta reacción produce color, con un máximo de absorción a 593 nm (102). El protocolo de ensayo optimizado (FRAP) consistió en combinar 36 μ L de la muestra de saliva con 270 μ L del reactivo de poder reductor férrico. La actividad antioxidante se determinó interpolando la absorbancia medida de las muestras a 593 nm en una curva de calibración generada con Trolox a concentraciones comprendidas entre 100 y 1,56 μ M/L, empleando un ajuste de curva de regresión lineal. Los coeficientes de variación

fueron sistemáticamente inferiores al 15%, y el límite de detección se estableció en 0,432 $\mu\text{M/L}$ de equivalentes de Trolox.

Para evaluar el estado de oxidación se utilizó el ensayo comercial Pierce™ Quantitative Peroxide (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, EE.UU.). Las muestras de saliva se diluyeron 1:2 para el análisis, y la reacción consistió en 150 μL de estándar o muestra de saliva y 70 μL de tampón de trabajo. Los niveles de oxidantes en las muestras de saliva se calcularon interpolando las absorbancias medidas a 595 nm utilizando un ajuste de curva de 4 parámetros con una curva de calibración construida con peróxido de hidrógeno a concentraciones que oscilaban entre 31,25 y 0,97 $\mu\text{M/L}$. Se determinó que los coeficientes de variación eran inferiores al 11%, y el límite de detección de equivalentes de peroxidasa se estableció en 0,5 $\mu\text{M/L}$ de equivalentes de peroxidasa. El índice de estrés oxidativo se calculó como la relación entre TOS y TAC, siguiendo metodologías establecidas (103).

2.4.3. Determinación del contenido total de proteínas

El contenido total de proteínas de las muestras de saliva se evaluó siguiendo los protocolos establecidos (104). Las muestras de saliva se diluyeron (1:40) para su análisis, y las concentraciones se calcularon interpolando las absorbancias de las muestras obtenidas a 590 nm en una curva de calibración de 5-100 ng/mL de albúmina sérica bovina (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania) mediante un ajuste lineal de la curva.

2.5. Análisis estadístico

En primer lugar, se realizó la caracterización muestral de la respuesta bioquímica de los jugadores de fútbol durante el mesociclo mediante medias y desviaciones típicas. La distribución normal de los datos y la homocedasticidad se confirmaron mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Levene (105).

Para evaluar el efecto agudo de la fatiga, se realizaron dos análisis: (1) una prueba t de medidas repetidas para evaluar el resultado de la carga de trabajo del entrenamiento y el partido en los niveles de proteína total, SIgA, TAC, TOS e índice de estrés oxidativo previos y posteriores a los eventos; y (2) una prueba t de medidas independientes para evaluar si el entrenamiento y los partidos producen diferentes efectos utilizando nuevas variables calculadas como la diferencia entre los valores previos y posteriores. Para evaluar el efecto crónico de la fatiga, se realizó un MANOVA de medidas repetidas para identificar la media de las diferencias entre las sesiones a lo largo del período congestionado. Se realizaron comparaciones dos a dos mediante la corrección de Bonferroni (105). El cálculo de la potencia estadística, basado en una prueba F para factores intragrupal con dos niveles (entrenamiento vs. emparejamiento) y dos puntos temporales (pre vs. post), determinó que una muestra de 17 participantes proporcionaría una potencia del 95,5% para detectar diferencias con una $p < 0,05$ y un tamaño del efecto de 0,65, utilizando G-Power (106). Además, se calculó el omega cuadrado parcial (ω^2) para evaluar la magnitud de las diferencias para MANOVA y se interpretó siguiendo a Cohen (107): $<0,01$ como trivial, $0,01-0,06$ como pequeño, $0,06-0,14$ como mediano y $>0,14$ como grande. En cambio, se utilizó la d de Cohen para interpretar comparaciones 2 por 2 utilizando la clasificación de Hopkins et al. (108): trivial ($<0,2$), bajo ($0,2-0,5$), moderado ($0,5-0,8$) y alto ($>0,8$). Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS v24.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EE. UU.) y los gráficos se crearon con el software GraphPad Prism v9.0 (GraphPad Software, La Jolla, CA, EE. UU.). La significancia estadística se estableció en $p < 0,05$.

3. METODOLOGÍA ESTUDIO III

3.1. Planteamiento experimental del problema

Este estudio tuvo como objetivo identificar las variables de carga externa reportadas por los sistemas LPS que mejor explican la carga externa total (Player Load) experimentada por los jugadores élite de fútbol sala durante un período de congestión. Además, el estudio examinó la relación entre estas variables de carga externa y los marcadores de carga interna -específicamente SlgA, TP, TOS y TAC- para evaluar la variabilidad individual en respuesta al estrés físico. Para ello, la investigación empleó un diseño observacional longitudinal para analizar los datos de carga de entrenamiento recogidos durante un período de pretemporada de cuatro semanas.

Se analizaron un total de ocho sesiones de entrenamiento durante el periodo de estudio, examinando las variables de carga interna y externa. Las sesiones de entrenamiento designadas incorporaron una combinación de entrenamiento táctico-técnico (TT) y entrenamiento físico (PT) durante todo el periodo de congestión. Los componentes del TT incluían partidos en campo reducido, ejercicios de juego posicional y entrenamiento de patrones tácticos con énfasis en estrategias ofensivas y defensivas. Los componentes del PT consistieron en entrenamiento de intervalos de alta intensidad, ejercicios de aceleración/desaceleración y ejercicios de acondicionamiento específicos del deporte, todos ellos diseñados para reproducir la naturaleza intermitente de la competición de fútbol sala. El PT se integró con el TT en la cancha, con una duración media del entrenamiento de aproximadamente 100-120 minutos al día, excluyendo los periodos de calentamiento y enfriamiento.

Durante el entrenamiento, se midieron el “Player Load” y otras variables de carga externa mediante un sistema LPS. Cada jugador llevaba un dispositivo WIMU PRO™ colocado en un bolsillo trasero de un chaleco pectoral, junto con

una banda GARMIN (Garmin Ltd., Olathe, Kansas, EE.UU.) para realizar un seguimiento de la frecuencia cardiaca. El sistema WIMU PRO™ (RealTrack Systems, Almería, España) se utilizó para medir las variables de carga externa, garantizando datos precisos y fiables para evaluar el rendimiento físico. Para la recogida de variables de carga interna, los jugadores proporcionaron muestras de saliva en reposo aproximadamente 10 minutos antes del calentamiento previo a la sesión (PRE), mientras que las muestras de saliva posteriores a la sesión se recogieron 40 minutos después de la conclusión de la sesión (POST). Es importante señalar que este estudio se realizó durante la pretemporada, abarcando un período de cuatro semanas. El número de sesiones de entrenamiento realizadas por semana varió a lo largo de la pretemporada (véase la Tabla 2).

Tabla 2. Distribución temporal de las sesiones de entrenamiento y muestreo interno y externo durante la pretemporada.

Semana	Lunes	Martes	Miercoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
1	Sesión 1	Sesión 2	Sesión 3	Sesión 4	Sesión 5		-
	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT		
2	Sesión 6	Sesión 7	Sesión 8	Sesión 9	Sesión 10	Sesión 11	-
	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT	FM	
	IES1			IES2			
3	Sesión 12	Sesión n 13	Sesión 14	Sesión 15	-	Sesión 16	-
	TT // PT	TT // PT	TT // PT	TT // PT		FM	
	IES3			IES4			
4	Sesión 17	Sesión 18	Sesión 19	Sesión 20	-	Sesión 21	-
	FM	TT // PT	FM	TT // PT		FM	
	IES5	IES6	IES7	IES8			

Notes: PT = Entrenamiento físico; IES = Muestra interna y externa; TT = Entrenamiento técnico-táctico; FM = Partido amistoso.

3.2. Sujetos

Este estudio utilizó un muestreo por conveniencia, reclutando a 18 jugadores del mismo club de élite portugués de fútbol sala (edad: $23,07 \pm 6,76$ años; altura: $1,75 \pm 0,06$ m; masa corporal: $75,47 \pm 7,47$ kg; experiencia como

jugador de élite: $5,38 \pm 2,03$ años). El tamaño de la muestra se determinó mediante un análisis de potencia a priori con G*Power (versión 3.1.9.4), con $\alpha = 0,05$, potencia = 0,80 y un tamaño del efecto esperado de 0,35, lo que indica que se requeriría un mínimo de 17 participantes para los análisis estadísticos planificados. Antes de participar, todos los jugadores fueron informados sobre los objetivos, procedimientos, requisitos, posibles riesgos y beneficios del estudio. Los participantes se inscribieron voluntariamente y dieron su consentimiento informado por escrito tras recibir todos los detalles del protocolo de investigación. Los criterios de exclusión incluyeron: (i) cualquier lesión reciente que requiriera atención médica, (ii) cualquier enfermedad o infección en las dos semanas previas a la recolección de datos, (iii) terapia hormonal o medicación con efectos conocidos sobre la función inmunitaria, y (iv) el uso de antiinflamatorios o suplementos antioxidantes durante el estudio. El estudio fue aprobado por el comité de ética de investigación de la institución (ID: 3495/2021) y cumplió con las normas éticas establecidas en la Declaración de Helsinki (2013).

3.3 Recopilación de datos LPS

Se utilizó el sistema WIMU PRO™ (RealTrack Systems, Almería, España) para monitorizar las variables de carga externa, ofreciendo datos validados y fiables para la evaluación del rendimiento físico (27,28) (Figura 4). Cabe destacar que este sistema está certificado por el Programa de Calidad de la FIFA, lo que garantiza una alta precisión en la captura de métricas clave de rendimiento, como la velocidad y los datos posicionales (29). La recopilación de datos se realizó a distintas frecuencias según el tipo de sensor. Los datos posicionales se registraron a 33 Hz, mientras que los datos del sensor inercial se capturaron a 100 Hz, lo que proporcionó una evaluación exhaustiva del movimiento y el esfuerzo del jugador. Cada jugador estaba equipado con un

dispositivo WIMU PRO™, fijado en el bolsillo trasero de un chaleco especializado, lo que garantizó un seguimiento preciso de las respuestas.

Antes de cada sesión de recopilación de datos, el sistema LPS se calibró siguiendo el protocolo estandarizado descrito por Pino-Ortega et al. (2024), que incluyó la colocación de ocho puntos de anclaje alrededor del perímetro de la cancha de fútbol sala a una altura de 3 metros sobre el suelo (27). El proceso de calibración verificó la intensidad de la señal y la precisión del posicionamiento con una precisión de ± 5 cm para garantizar la fiabilidad de los datos. Tras cada entrenamiento y partido, los datos recopilados se subieron a la plataforma SPRO (RealTrack Systems, Almería, España), donde se generó el informe final de rendimiento físico.

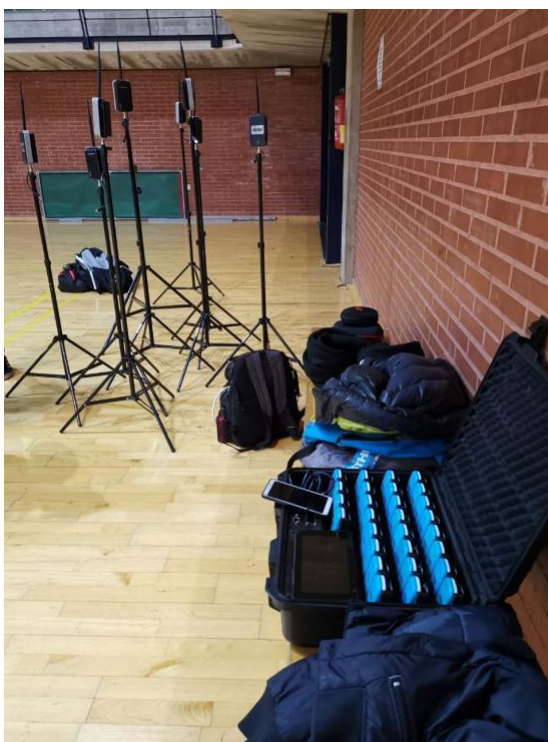


Figura 4. Representación gráfica de antenas y sistemas WIMU PRO™ (RealTrack Systems, Almería, España)

3.4. Recolección de Saliva

Se indicó a los participantes que se abstuvieran de consumir alimentos o productos que contuvieran cafeína durante al menos dos horas antes de la recogida de la muestra de saliva. Antes de proporcionar la muestra, se enjuagaron la boca con agua destilada para eliminar cualquier posible contaminante que pudiera afectar a los niveles de SIgA. Sentados con los ojos abiertos y la cabeza ligeramente inclinada hacia delante, los participantes masticaron una esponja durante un minuto antes de expulsar la saliva en tubos de recogida estériles. Para controlar las variaciones diurnas, todas las sesiones de entrenamiento se programaron por la tarde, a partir de las 19:00 horas, con una temperatura ambiente que oscilaba entre los 24 y los 27°C. Las muestras de saliva se recogieron utilizando hisopos de fibra sintética y tubos especializados (tubos Salivette Cortisol, Sarstedt AG & Co., KG, Nümbrecht, Alemania). Tras la recogida, las muestras se almacenaron a -80°C hasta su posterior análisis.

3.4.1 Inmunoglobulina A salival

Las concentraciones de SIgA se cuantificaron mediante un kit de ensayo inmunoenzimático (ELISA) (Salivary Secretory IgA Indirect Enzyme Immunoassay Kit, Salimetrics, State College, PA, EE.UU.). El proceso analítico siguió las directrices del fabricante, garantizando ensayos duplicados para cada muestra. Las tiras requeridas se colocaron en el portaplacas, mientras que las tiras no utilizadas se almacenaron a 2-8°C. Para la preparación del ensayo, se pipetearon 3 mL de diluyente 1X SIgA en un tubo, ajustando según fuera necesario. Se etiquetó cada muestra y se mezclaron 100 µL de diluyente con 25 µL de saliva y se agitó en vórtex. En tubos separados de 5 mL, se combinaron 4 mL de diluyente con 10 µL de estándares, controles y muestras

de saliva diluidas, y se añadieron 10 μ L de diluyente al tubo cero. El conjugado anticuerpo-enzima se diluyó 1:120, y se añadieron 50 μ L a cada tubo antes de una incubación de 90 minutos. A continuación, se transfirieron 50 μ L de cada tubo a los pocillos de la placa, con 50 μ L de diluyente en los pocillos en blanco. Después de otra incubación de 90 minutos, la placa se lavó seis veces con tampón de lavado 1X, seguido de la adición de 50 μ L de solución de sustrato TMB y una incubación de 40 minutos en la oscuridad. La reacción se detuvo con 50 μ L de solución de parada, produciendo un cambio de color. La densidad óptica se midió a 450 nm en 10 minutos, con una corrección secundaria a 490-492 nm para mayor precisión.

3.4.2 Cuantificación de biomarcadores de estrés oxidativo

El método TAC determina la capacidad antioxidante evaluando la capacidad de los antioxidantes de la muestra para reducir los oxidantes, utilizando Trolox como patrón de referencia. El ensayo FRAP evalúa la actividad antioxidante facilitando la reducción del complejo férrico tripiridiltriazina a su forma ferrosa (FeII) en condiciones ácidas, generando un cambio de color con una absorbancia máxima a 593 nm (102). El protocolo optimizado consistió en combinar 36 μ L de saliva con 270 μ L de reactivo reductor férrico, y la capacidad antioxidante se cuantificó interpolando los valores de absorbancia frente a una curva de calibración de Trolox (100-1,56 μ M/L) mediante regresión lineal. El método mantuvo un coeficiente de variación inferior al 15%, con un umbral de detección de 0,432 μ M/L de equivalentes de Trolox.

Las concentraciones de oxidante se determinaron utilizando el ensayo de peróxido cuantitativo Pierce™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.). Las muestras de saliva se diluyeron en una proporción 1:2, y la mezcla de reacción consistió en 150 μ L de estándar o muestra combinados con 70 μ L

de tampón de trabajo. La absorbancia a 595 nm se analizó mediante un ajuste de curva de 4 parámetros frente a una curva de calibración de peróxido de hidrógeno (31,25-0,97 $\mu\text{M/L}$). El ensayo mostró un coeficiente de variación inferior al 11%, con un límite de detección de 0,5 $\mu\text{M/L}$ de equivalentes de peroxidasa. El índice de estrés oxidativo se obtuvo a partir de la relación TOS/TAC basándose en protocolos establecidos (103).

3.4.3 Determinación del contenido total de proteínas

El contenido total de proteínas en las muestras de saliva se determinó siguiendo protocolos establecidos (104). Las muestras se diluyeron (1:40) y las concentraciones se calcularon interpolando los valores de absorbancia a 590 nm en una curva de calibración de albúmina sérica bovina (5-100 ng/mL, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemania) mediante regresión lineal.

3.5 . Análisis estadístico

En primer lugar, se depuró el conjunto de datos de datos faltantes y valores atípicos, que se identificaron calculando puntuaciones z , y se eliminaron los valores superiores a tres desviaciones estándar de la media. Se realizó un análisis exploratorio para estimar la media, la desviación estándar y otras estadísticas descriptivas. Antes de realizar el análisis de regresión, se llevó a cabo un análisis exploratorio de multicolinealidad para eliminar las variables con alta colinealidad, lo que se hizo estimando el factor de inflación de la varianza (VIF). Los valores superiores a 10 en el VIF indicaban una alta colinealidad y, en consecuencia, las variables se eliminaron del análisis de regresión.

El objetivo de este estudio era evaluar la capacidad predictiva de diversas variables intrínsecas y extrínsecas sobre el “Player Load”, por lo que se llevaron

a cabo varios pasos con este fin. En primer lugar, para garantizar la solidez de los modelos y evitar sesgos debidos a diferencias en las escalas de las variables, todas las variables predictoras se estandarizaron a una media = 0 y una desviación estándar = 1. La estandarización se realizó mediante la función de escala. La normalización se realizó mediante la función de escala. La variable dependiente, El “Player Load”, se mantuvo en su escala original. En segundo lugar, el conjunto de datos se dividió aleatoriamente en dos conjuntos: un conjunto de entrenamiento (80% de los datos) para el desarrollo del modelo, y un conjunto de prueba (20% de los datos) para la validación del modelo. Esta división ayuda a evaluar el rendimiento del modelo en datos no vistos y evita el sobreajuste. Para predecir la carga de los jugadores se aplicaron varios métodos de modelización: regresión lineal múltiple, Random Forest y Gradient Boosting. Cada modelo se seleccionó en función de su capacidad para hacer frente a problemas específicos como la multicolinealidad, la no linealidad y el sobreajuste. La regresión lineal múltiple fue el enfoque inicial, dada su interpretabilidad y simplicidad a la hora de estimar las relaciones entre las variables predictoras y la carga de los jugadores. Se comprobó y verificó el supuesto de linealidad antes de aplicar el modelo. Se utilizó un bosque aleatorio para captar interacciones complejas entre variables y clasificar la importancia de cada característica en la predicción de el “Player Load”. Este modelo se aplicó utilizando 500 árboles. Se aplicó Gradient Boosting para mejorar la precisión del modelo mediante la construcción secuencial de modelos que corrigen los errores de los anteriores. El número de árboles y la profundidad de la interacción se ajustaron para optimizar el rendimiento.

La evaluación del rendimiento de la regresión lineal múltiple se evaluó en el conjunto de pruebas, utilizando métricas de regresión estándar, como el error cuadrático medio (RMSE), el error absoluto medio (MAE) y el coeficiente de determinación (R^2). Tanto para Random Forest como para Gradient Boosting, se generaron gráficos de importancia de las características para destacar las

variables más influyentes en la predicción de la carga de los jugadores. Por último, para el análisis exploratorio de la relación entre las variables fisiológicas (internas) y los indicadores de carga externa, se utilizó un enfoque gráfico para cada jugador, en el que cada panel representaba la relación entre las desaceleraciones y la proteína salival total. Esta visualización permite evaluar la dirección y magnitud de la asociación dentro de cada sujeto a lo largo del tiempo, evitando el sesgo potencial de un análisis agrupado que asume homogeneidad en las respuestas.

Todos los análisis se realizaron con R (versión 4.4.1), lo que garantizó la reproducibilidad del estudio. Se utilizaron principalmente las siguientes bibliotecas: `psych`, `caTools`, `glmnet`, `randomForest`, `gbm`, `ggplot2` y `caret`. El código detallado está disponible previa solicitud para facilitar la replicación del análisis en futuras investigaciones. El nivel de significación se estableció para todos los análisis estadísticos en $p < 0,05$.

PARTE IV.

RESULTADOS

1. RESULTADOS ESTUDIO I

1.1. Identificación y selección de estudios

Tras realizar la búsqueda, se encontraron inicialmente 504 estudios relevantes (496 bases de datos y 8 registros adicionales a través de otras fuentes). Una vez eliminados los estudios duplicados, quedaron 385 estudios únicos para revisar. Se examinaron los títulos y resúmenes de estos 385 estudios, lo que permitió identificar 53 estudios potencialmente elegibles. Los estudios restantes se excluyeron debido a su falta de relevancia para el tema del manuscrito. Se recuperaron los textos completos de estos 53 estudios y se examinaron en función de los criterios de inclusión/exclusión. Este proceso de revisión del texto completo filtró 25 estudios que no cumplían los criterios. Finalmente, se seleccionaron 28 estudios. En la figura 2 se ilustra el proceso de búsqueda, identificación y selección de los estudios.

1.2. Calidad metodológica

Los resultados del riesgo de sesgo metodológico de los artículos incluidos en esta revisión se pueden consultar en la Tabla 3. Del total de 28 estudios, 13 estudios son comparativos (24 puntos máximos) y 15 son no comparativos (16 puntos máximos). Diecinueve estudios presentan un bajo riesgo de sesgo con puntuación B (dos estudios comparativos y once no comparativos). Ningún estudio tiene una puntuación A. Cuatro estudios comparativos presentan un alto riesgo de sesgo (Puntuación C). El ítem peor evaluado en todos los tipos de estudios es el ítem 5 (Evaluaciones realizadas de forma neutral), mientras que el ítem peor evaluado en los estudios comparativos es el ítem 8 (Un grupo control que tenga la intervención gold standard).

Tabla 3. Evaluación del riesgo metodológico de sesgo mediante la lista de comprobación Minors

Estudios	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Score
Barcelos et al. (2017)	2	2	1	1	0	2	2	0	2	2	1	2	17/24
Birdsey et al. (2019)	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Botonis et al. (2023)	1	2	1	1	2	1	2	0	2	1	0	1	14/24
Bresciani et al. (2010)	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	2	2	20/24
Coad et al. (2015)	1	2	1	1	2	1	2	0	2	1	0	1	14/24
Coad et al. (2016)	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	15/16
Cormack et al. (2008)	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Cunniffe et al. (2011)	2	1	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	14/16
Horta et al. (2019)	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	1	1	18/24
Kamarauskas et al. (2023)	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	2	2	20/24
Lindsay et al. (2015)	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	1	1	18/24
Marin et al. (2013)	2	2	2	2	1	2	2	0	2	1	2	2	20/24
Martínez et al. (2010)	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	1	1	18/24
McLellan et al. (2010)	2	2	1	1	0	2	2	0	2	2	1	2	17/24
Miloski et al. (2016)	2	2	2	1	0	2	2	-	-	-	-	2	13/16
Mohr et al. (2016)	1	2	2	1	2	1	2	-	-	-	-	1	12/16
Moreira et al. (2009)	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	1	1	16/24
Moreira et al. (2013)	1	1	2	2	1	2	2	0	2	0	2	1	16/24
Rowell et al. (2018)	2	2	2	2	1	0	2	-	-	-	-	1	12/16
Saidi et al. (2022)	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	15/16
Schelling et al. (2009)	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Schelling et al. (2015)	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	15/16
Souglis et al. (2015)	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Spanidis et al. (2016)	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Springham et al. (2021)	2	2	2	2	1	1	2	-	-	-	-	1	13/16
Talaee et al. (2017)	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	2	2	20/24
Tiernan et al. (2020)	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Twist et al. (2012)	2	2	2	2	0	2	2	-	-	-	-	2	14/16

Nota. La lista de comprobación MINORS pide la siguiente información (2 = Alta calidad; 1 = Calidad media; 0 = Baja calidad): 1. 1. Objetivo claramente definido; 2. Inclusión de pacientes de forma consecutiva; 3. Información recogida de forma retrospectiva; 4. Evaluaciones ajustadas al objetivo; 5. Evaluaciones realizadas de forma neutral; 6. Fase de seguimiento coherente con el objetivo; 7. Tasa de abandono durante el seguimiento inferior al 5%; 8. Un grupo de control con la intervención de referencia; 9. Grupos contemporáneos; 10. Equivalencia basal de los grupos; 11. Cálculo prospectivo del tamaño de la muestra; y 12. Análisis estadístico apropiado. 12. Análisis estadístico apropiado.

1.3. Características de los Estudios Seleccionados

La Tabla 4 muestra las características de los estudios seleccionados en la presente revisión sistemática. Los estudios incluidos abarcaron el período comprendido entre 2008 y 2023. El primer estudio se publicó en 2008, mientras que más del 70 % de los estudios ($n = 16$) surgieron a partir de 2015, lo que pone de manifiesto la creciente atención de la investigación sobre este tema.

Los estudios seleccionados involucraron a atletas de élite de diferentes deportes de equipo. El deporte más evaluado fue el baloncesto ($n = 7$) (73,109–114), seguido del fútbol ($n = 6$) (112,115–119), balonmano ($n = 3$) (68,112,120), fútbol sala ($n = 3$) (65,67,83), rugby ($n = 3$) (121–123), fútbol australiano ($n = 3$) (124–126), voleibol ($n = 2$) (66,112), rugby union ($n = 2$) (127,128), netball ($n = 1$) (129) y waterpolo ($n = 1$) (130). En cuanto al contexto de la evaluación, ocho estudios analizaron las respuestas a partidos oficiales (112,116,117,122–125,129), ocho estudios se centraron exclusivamente en el entrenamiento regular (66,67,83,114,120,127,128,130) y doce estudios examinaron tanto los partidos como las cargas de trabajo de entrenamiento (65,68,73,110,111,113,115,118,119,121,126,128). Al comparar los partidos oficiales con las sesiones de entrenamiento, los partidos oficiales imponen mayores exigencias fisiológicas, lo que provoca respuestas de estrés intensificadas. Los biomarcadores evaluados con mayor frecuencia fueron las hormonas anabólicas/catabólicas musculares (testosterona y cortisol) ($n = 15$) (66,68,109,111,112,115–117,119,121,126,129–132), los marcadores de daño (creatina quinasa y lactato deshidrogenasa) ($n = 9$) (65–68,112,115,118,123,129), los marcadores inmunológicos (inmunoglobulina A y función de las células inmunitarias) ($n = 8$) (83,119,122,124,125,127,128,130), los marcadores de estrés oxidativo (especies reactivas de oxígeno y capacidad antioxidante) ($n = 6$) (65,68,113–115,120) y los marcadores inflamatorios (proteína C reactiva y citocinas) ($n = 4$) (112,115,118,120).

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Barcelos et al. (2017)	8 jugadores de élite de fútbol sala masculino (Edad: 25.5 ± 5.4 años)	Pretemporada y temporada	Partidos y entrenamientos	Marcadores de daño muscular: CK y LDH. Marcadores de estrés oxidativo (IMA y AOPP)	En 3 puntos: Fin de pretemporada (T1) Dos semanas antes de la copa (T2) Fin de temporada (T3)	Valores inferiores * de CK (271 - 413 vs 446 - 777 U/L) y LDH (175-232 vs 359 441 U/L). Valores estacionales de IMA* y AOPP*	Los marcadores bioquímicos pueden ser útiles para monitorizar el entrenamiento. Un periodo de ajuste de una semana antes del campeonato principal (T2) parece ser eficaz para lograr una recuperación óptima.
Birdsey et al. (2019)	11 jugadoras internacionales de netball (Edad: 25 ± 4 años; Masa: 71.8 ± 7.8 kg; Altura: 1.8 ± 0.1 m)	Durante un torneo de tres días y los tres días siguientes.	Partidos	Testosterona, Cortisol, CK	La CK se midió por la mañana de cada jornada y 62 horas después del torneo. El cortisol y la testosterona se midieron a intervalos similares.	Cortisol: Se observe una disminución leve, posiblemente significativa, el segundo día del torneo (0.47 µg/dl ± 0.23). El tercer día se observó un cambio insignificante, probablemente no significativo (0.65 µg/dl ± 0.29). Tres días después del torneo, los cambios no fueron claros (0.58 µg/dl ± 0.34). Testosterona: Se registró una ligera y posiblemente significativa disminución tanto en el segundo (102.9 pg/ml ± 25.9) como en el tercer día (105.4 pg/ml ± 25.3) del torneo. Tres días después, la disminución se mantuvo leve y posiblemente significativa (95.7 pg/ml ± 27.0) Creatina Kinasa (CK): Un aumento muy grande y probablemente significativo en el segundo (217.2 U/L ± 67.4) y tercer día (283.0 U/L ± 121.3) del torneo. Tres días después, los cambios en los niveles de CK fueron inciertos (141.9 U/L ± 113.0)	La acumulación de CK sugiere daños musculares durante el torneo, con recuperación al cabo de tres días. La disminución de la testosterona sugiere una influencia en el rendimiento y la motivación. El cortisol mostró un descenso inicial seguido de la normalización, lo que indica adaptación al estrés del torneo.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Botonis et al. (2023)	8 jugadoras internacionales de waterpolo (Edad: 28.6 ± 3.9 años; Masa corporal: 98.9 ± 11.0 kg; Estatura: 190.4 ± 6.1 cm)	16 días divididos en tres fases: PRE-CAMP (3 días antes del campamento de entrenamiento), CAMP (campamento de entrenamiento de 5 días) y POST-CAMP (8 días de entrenamiento y competición intensos).	Entrenamiento	Cortisol salival, inmunoglobulina A	Recopilación de cortisol salival, inmunoglobulina-A, y bienestar subjetivo durante PRE-CAMPAMENTO, CAMPAMENTO Y POST-CAMPAMENTO.	En el grupo CAMP, en comparación con el grupo PRE-CAMP, las interrupciones del sueño y el cortisol saliva fueron mayores ($P < 0.01$, $d = 1.6$, $d = 1.9$, respectively). En el grupo POST-CAMP, la reducción de la carga de trabajo se asoció con una mayor eficiencia del sueño, una reducción de las interrupciones del sueño y un efecto moderado del cortisol saliva; sin embargo, el bienestar general se mantuvo sin cambios.	El aumento significativo de la carga de trabajo durante un campamento de entrenamiento provoca alteraciones del sueño y aumentos del cortisol saliva, que se revierten después del campamento. Esto sugiere que el aumento de la carga de trabajo, junto con una recuperación inadecuada, afecta los patrones de sueño y puede aumentar el riesgo de infección.
Bresciani et al. (2010)	14 jugadores de balonmano masculino (Edad: 20.1 ± 2.5 años)	Pretemporada y temporada	Entrenamiento	Marcadores de estrés oxidativo (proteína C-reactiva, GSSG, GSH, y la correlación GSH/GSSG)	En 5 puntos temporales: Antes de la pretemporada, final de la pretemporada, después de la 1. ^a fase de competición (FC), Después de la 2. ^a FC y 7 semanas después de la temporada.	Periodos de alta carga: - $\uparrow$ GSSG ($21.6 - 38.6$ mmol/l). - $\downarrow$ * GSH / GSSG ratio ($18.8 - 28.9$). Correlación positiva de GSSG ($r = 0.65$), GSH / GSSG ratio ($r = 0.63$) con s-RPE.	Los resultados muestran que, durante los periodos de entrenamiento de alta intensidad, los jugadores de balonmano presentan una inflamación y un estrés oxidativo menores. Esto resalta la importancia de monitorear de cerca los marcadores psicológicos y biológicos relacionados con la inflamación, el estrés oxidativo y la carga de entrenamiento durante la temporada.
Coad et al. (2015)	11 atletas masculinos de élite de la Liga Australiana de Fútbol (Edad: 21.8 ± 2.4 años; Altura: 186.9 ± 7.9 cm; Masa: 87.4 ± 7.5 kg)	A lo largo de 3 partidos durante la pretemporada que estuvieron separados por 7 días.	Partidos	Concentración de inmunoglobulina A salival	Se recogieron muestras de saliva durante cada Partido, 24 horas y 1 hora antes del partido y 1, 12, 36 y 60 horas después del partido.	En el partido 3, la sIgA se suprimió significativamente ($p < 0.01$) en 2 mediciones posteriores al partido (12 y 36 h) en comparación con las mediciones previas al partido (24 y 1 h), lo que coincidió con una carga de jugadores significativamente elevada ($p < 0.01$)	Los hallazgos indicaron que un aumento en la carga de los jugadores durante el partido resultó en un compromiso de la función inmunológica de la mucosa posterior al partido.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Coad et al. (2016)	18 atletas de élite masculinos de la Liga Australiana de Fútbol (Edad: 24 ± 4.2 años; Altura: 187.0 ± 7.1 cm; Masa: 87.0 ± 7.6 kg)	16 partidos consecutivos en una temporada de primer ministro de la Liga Australiana de Fútbol.	Partidos	Concentración de inmunoglobulina A salival	Concentración (s-IgA) medida 36h después del partido durante la Liga Australiana de Fútbol.	Efectos significativos ($p < 0.05$) en comparación con el sIgA basal.	Los partidos pueden retrasar la recuperación de sIgA más allá de las 36h posteriores para una recuperación completa, y pueden tener un mayor riesgo de enfermedad durante las primeras 36h posteriores al partido.
Cormack et al. (2008)	15 jugadores de élite de la Liga Australiana de Fútbol (Edad: 24.9 ± 2.4 años; Altura: 1.87 ± 0.07 m; Peso: 88.0 ± 7.9 kg).	Antes y durante la temporada de 22 partidos.	Partidos y entrenamiento	Cortisol (C) y Testosterona (T)	Datos iniciales recopilados en reposo aproximadamente 36 horas antes del primer partido de la temporada y en 20 ocasiones a lo largo de la temporada de 22 partidos.	El cortisol fue sustancialmente menor (hasta $-40 \pm 14.1\%$, ES de -2.17 ± 0.56) que el Pre en todas las comparaciones excepto en una. La respuesta de la testosterona fue variable, mientras que la T:C aumentó sustancialmente en el 70% de los casos, alcanzando $92.7 \pm 27.8\%$ (ES 2.03 ± 0.76).	El cambio en T:C indica que es poco probable que los sujetos hayan estado en un estado catabólico durante la temporada. El aumento de Cortisol en comparación con el Pre tuvo una pequeña correlación negativa.
Cunniffe et al. (2011)	31 jugadores élitede rugby union (Delanteros: $n = 16$, Edad: 26.8 ± 0.9 años; Peso: 112 ± 2.6 kg; Altura: 188.3 ± 1.7 cm. Backs: $n = 14$, Edad: 25.9 ± 0.9 años; Peso: 91 ± 2.0 kg; Altura: 182.6 ± 2.4 cm).	Temporada competitiva de 48 semanas.	Entrenamiento	Enfermedad de las vías respiratorias altas (URI) inmunoglobulina A (SIgA), lisozima salival (s-Lys), y cortisol.	Durante la temporada se recogieron datos semanales sobre la enfermedad y la TL. Se tomaron muestras cronometradas de saliva en reposo por la mañana (SIgA $n=11$; s-cortisol ($n = 7$) a lo largo de la temporada ($n = 48$ semanas).	No se encontró correlación significativa entre las concentraciones absolutas de s-IgA o s-Lys y la incidencia de URI. Los picos de URI estuvieron precedidos por periodos de mayor intensidad de entrenamiento y menor actividad de juego. Se observaron sistemáticamente concentraciones más bajas de SIgA ($P<0.05$) y s-Lys en los backs que, en los delanteros, mientras que la incidencia de URI también difería según la posición del jugador (3.4 delanteros y 4.3 backs). Los descensos en las concentraciones absolutas de s-IgA (diciembre) y s-Lys (noviembre y febrero) se asociaron a un aumento correspondiente del cortisol saliva ($P<0.05$).	La monitorización regular de s-IgA y s-Lys puede ser útil para evaluar el estrés del ejercicio y el estado de riesgo de URI en atletas de deportes de equipo de élite. Es probable que los aumentos de la liberación de cortisol inducidos por el estrés contribuyan a reducir la inmunidad de las mucosas, predisponiendo a los jugadores de rugby a un mayor riesgo de enfermedad.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Horta et al. (2019)	12 jugadores de voleibol de élite (Edad: 26.9 ± 4.6 años; Masa corporal: 94.9 ± 11.6 kg; Altura: 194.6 ± 8 cm).	Un breve periodo preparatorio de 6 semanas	Sesiones preparatorias de entrenamiento	Creatina Kinasa (CK), Testosterona (T), Cortisol (Cr) and T/Cr ratio.	Evaluación al inicio y después de la 2ª, 4ª y 6ª semanas.	Aumento significativo de la carga de entrenamiento y de los niveles de CK, lo que indica daño muscular ($r = 0.32$; $p = 0.05$) aumento del estrés psicológico, como se refleja en las respuestas del Cuestionario de Estrés para Deportistas (RESTQ-Sport). No hubo cambios significativos en T, Cr, y la correlación T/Cr.	Un período preparatorio corto provocó un aumento de la carga de entrenamiento, daño muscular y estrés psicológico sin aumento simultáneo del rendimiento físico
Kamarauskas et al. (2023)	21 jugadores élitede baloncesto (Edad: 26.2 ± 4.9 años; Altura: 198.7 ± 6.7 cm; Masa corporal: 93.2 ± 10.0 kg)	5 semanas en fase de pretemporada	Entrenamiento y partidos	Testosterona (T), Cortisol (C), y su ratio (T:C)	Se recogieron muestras de saliva durante un día experimental al principio de cada semana de la fase de pretemporada.	No se observaron relaciones significativas ($p > 0.05$) entre los cambios semanales en T, C o T: C.	Estos resultados sugieres que las medidas de carga interna no pueden utilizarse para anticipar las respuestas hormonales semanales durante la fase de pretemporada en jugadores élitede baloncesto masculino.
Lindsay et al. (2015)	24 jugadores élitede rugby (Edad: 24.2 ± 2.9 años; Masa: 103.3 ± 11.6 kg; Altura: 1.87 ± 0.06 m)	3 partidos de rugby élite	Partidos	Mioglobina, inmunoglobulina A saliva, cortisol, neopterin y neopterin total.	Se recogieron muestras de saliva ~120 min antes del partido y ~30–40 min después.	Disminuciones post-partido ($p < 0.001$), disminuciones de sIgA para el partido 2 ($p = 0.019$). Disminuciones medias de sIgA tras todos los partidos.	Se observaron disminuciones significativas de la concentración y secreción de sIgA en el juego 2. La tasa de secreción post-partido se ve afectada por lasa pre-partido y el número de impactos.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Marin et al. (2013)	10 jugadores élitede balonmano (Edad: 25 ± 4.5 años; Masa: 95.3 ± 9.8 kg; Altura: 187 ± 6.6 cm)	Más de 6 meses de temporada competitiva, con evaluaciones cada seis semanas	Partidos y entrenamientos	Estrés oxidativo y biomarcadores antioxidantes, daño muscular, parámetros bioquímicos, actividades enzimáticas antioxidantes, parámetros funcionales de las células inmunitarias, producción de anión superóxido, óxido nítrico y peróxido de hidrógeno.	Se recogieron muestras de sangre cuatro veces cada seis Semanas durante toda la temporada. En cada extracción de sangre (T1-T4), las muestras se recogieron por la mañana (10 a.m.).	TBARS plasmático: aumentó significativamente (4.4 veces después de T3, 3.2 veces después de T4). Tíoles plasmáticos: disminución marcada durante los periodos intensos. TBARS eritrocitarios: aumento transitorio, reducción significativa por T4. Enzimas antioxidantes eritrocitarias: aumento espectacular (hasta 14.7 veces para el superóxido dismutasa en T4). Creatina Kinasa: Aumento del 94% después de la T4, lo que indica daño muscular. Lactato deshidrogenasa: disminuyó, luego se normalizo. IL-1β: disminución significativa después de T2. IL-6 y TNF-α: niveles estables. Proliferación de linfocitos y capacidad fagocítica de neutrófilos: fluctuaciones notables, disminución del 20% de la capacidad fagocítica.	El estrés oxidativo y los biomarcadores antioxidantes pueden cambiar a lo largo de la temporada en atletas de competición, reflejando el estrés físico y el daño muscular que se produce como resultado del entrenamiento competitivo de balonmano. Además, estas mediciones bioquímicas pueden aplicarse en el seguimiento fisiológico de los deportistas.
Martínez et al. (2010)	12 jugadores élitede baloncesto (Edad: 25.3 ± 4.4 años; Altura: 1.98 ± 0.10 m; Peso: 96.8 ± 13 kg)	Pretemporada y temporada	Partidos y entrenamientos	Cortisol y Testosterona	En 4 puntos temporales: pretemporada (T1), final del 2º mesociclo (T2), copa del rey (T3), final de la temporada regular y Eurocopa (T4).	Equilibrio catabólico/anabólico a lo largo de la temporada: Disminución de los niveles de cortisol en T2 y T4. Aumento* de la relación T/C en T2 y disminución* en T3.	El aumento de la testosterona y la disminución o el mantenimiento de los niveles de cortisol pueden contribuir a una recuperación eficaz. Controlar los niveles de cortisol, testosterona y entrenamiento es útil para prevenir el estrés y gestionar los periodos de recuperación durante la temporada.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
McLean et al. (2010)	12 jugadores élite de liga de rugby (Edad: 24.3 ± 3.6 años; Masa corporal: 101.9 ± 8.4 kg; Altura: 184.7 ± 6.1 cm)	Durante tres semanas de entrenamiento de diferente duración a lo largo de una temporada de liga de rugby de 26 semanas.	Partidos y entrenamientos	Testosterona, Cortisol, y Testosterone/Cortisol ratio (T:C)	Muestras de saliva recogidas 4h antes del partido y 1, 2 y 4 días después del partido en las tres semanas experimentales.	Se encontró una carga media diaria significativamente mayor en los microciclos de 7 días ($P < 0.005$, $d = 0.45$) y 9 días ($P < 0.01$, $d = 0.59$) en comparación con el microciclo de 5 días. Las medidas de cortisol del día 4 en los microciclos de 9 y 7 días fueron significativamente más altas que las del día de juego ($P < 0.01$, $d = 0.60$) y tendieron a ser más altas que las medidas del día 1, acercándose a la significación ($P = 0.07$, $d = 0.69$).	El estudio pone de relieve la complejidad de utilizar las hormonas salivales, especialmente la testosterona y el cociente T:C, como indicadores fiables de la fatiga o del estado anabólico/catabólico en jugadores élite de rugby. El cortisol mostró cierta correlación con la carga de entrenamiento y la recuperación, pero su variabilidad también sugiere limitaciones en su uso como único indicador de estrés fisiológico o fatiga en este contexto Deportivo.
Miloski et al. (2016)	12 jugadores élite de fútbol sala (24.3 ± 4.7 años; 75.5 ± 6.7 kg; y 173.4 ± 6.5 cm)	Pretemporada y parcialmente (a mitad de temporada)	Entrenamiento	Testosterona, Cortisol, y Testosterona/Cortisol ratio (T:C). CK	Cada 2 semanas (pretemporada) y cada 4 semanas (temporada)	Aumento de la CK* (266 u/l) y de la relación T/C*** (2.0) al final de la pretemporada. Aumento del cortisol*** (+3.9 mg/dl) y disminución de la relación T:C*** (-0.5) de las muestras de sangre 4 a las muestras de sangre 5.	Durante la temporada, los jugadores mantuvieron estables sus valores de CK sin ninguna pérdida de rendimiento físico, lo que sugiere que los niveles estables de CK en sangre son una característica fisiológica de los jugadores de fútbol sala activos. Los datos hormonales estacionales muestran que los jugadores de fútbol sala manejaron eficazmente el estrés del entrenamiento y la competición, como lo indica la relación T:C sin disminución del rendimiento vinculada.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Mohr et al. (2015)	40 jugadores de fútbol masculino de competición (Edad: 21.5 ± 0.3 años; Altura: 1.77 ± 0.01 m; Peso: 73.4 ± 0.9 kg)	Estudio congestivo de una semana de duración durante 11 días, incluyendo pruebas de referencia, tres partidos de 90 minutos y 9 días de sesiones de entrenamiento y pruebas entre y después de los partidos.	Partidos y entrenamientos	PC, NEFA, Urea, Ammonia, Glycerol, Adhesion molecule concentrations, CK GSH, GSSG, TBARS, CAT, Cortisol, Testosterona, Cytokines, CRP, TAC.	Muestras de sangre venosa recogidas cada mañana hasta el tercer día después del partido final. Muestras adicionales antes de cada partido y 3-4 minutos después del final del primer y segundo tiempo de cada partido para la medicación de metabolitos.	Se observaron niveles elevados de CK, CRP y cortisol 48 horas después de los partidos, con aumentos más significativos tras el segundo partido. Los marcadores de estrés oxidativo como el TBARS y las proteínas carboniladas mostraron aumentos sustanciales después de los partidos. La relación glutatión reducido/oxidado disminuyó durante las primeras 24 horas después de los partidos.	Las respuestas inflamatorias y de estrés oxidativo a los microciclos de partidos consecutivos indican un aumento del estrés fisiológico y una fatiga más pronunciada tras el segundo partido, sobre todo debido al breve periodo de recuperación de tres días.
Moreira et al. (2009)	22 futbolistas élitemasculinos (Edad: 23 ± 4 años; Altura: 182 ± 6.8 cm; Masa corporal: 78.6 ± 8.4 kg).	Durante la temporada competitiva	Partido de fútbol de entrenamiento competitivo	Concentraciones de cortisol salival	Los sujetos proporcionaron muestras de saliva en reposo aproximadamente 10 minutos antes del calentamiento previo a la sesión (PRE) y a las muestras de saliva posteriores a la sesión se recogieron 10 minutos después de la conclusión del partido (POST).	No se observaron cambios significativos en las concentraciones de cortisol salival ($P > 0.05$) entre equipos o puntos temporales. Las respuestas individuales variaron, mostrando tanto aumentos como descensos en los niveles de cortisol.	El estudio indica que un partido de fútbol de competición no afecta significativamente a los niveles de cortisol salival en futbolistas élitede alto nivel adaptados a este tipo de estrés. Destaca la necesidad de realizar análisis individuales debido a la variabilidad de respuesta entre los jugadores.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Moreira et al. (2013)	12 futbolistas brasileños de élite (edad: 19 ± 1 años; altura: 180 ± 4 cm; y masa corporal 73 ± 7 kg)	4 semanas de entrenamiento intensive durante la temporada competitiva con 27 sesiones de entrenamiento realizadas.	Entrenamiento	Inmunoglobulina A salival, cortisol e infección del tracto respiratorio superior (ITRS)	Se evaluaron semanalmente la inmunoglobulina A salival, el cortisol salival y los síntomas de las infecciones urinarias.	No se observaron diferencias significativas de la <i>slgA</i> durante el estudio ($p > 0.05$). El cambio relativo en el valor absoluto de <i>slgA</i> se asoció con la gravedad de la ITRS durante la semana 4 ($r = -0.74$; $p < 0.05$).	Los atletas de fútbol sala fueron más susceptibles a una elevada gravedad de los síntomas de ITRS en los periodos de mayor intensidad y volumen de entrenamiento. Una reducción de la carga de entrenamiento antes de las competiciones es una estrategia adecuada para minimizar los síntomas de ITRS, asegurando la capacidad del atleta para entrenar y competir.
Rowell et al. (2018)	23 futbolistas de élite (Edad: 23.3 ± 4.1 años; Altura: 180 ± 10.0 cm; Peso: 75.7 ± 4.4 kg)	Temporada competitiva con 34 partidos (27 de liga regular y 7 de la Liga de Campeones asiática).	Partidos	testosterona, y cortisol	Recogida de saliva antes de la última sesión de entrenamiento previa al partido, entre las 09:00 y las 09:00h, siguiendo estrictos procedimientos previos a la prueba.	Respuestas específicas de cada posición a las cargas de entrenamiento. Los defensas centrales mostraron una reducción de los índices de rendimiento con aumento de la carga, mientras que los delanteros y los centrocampistas anchos tendieron a mejorar con el aumento de la carga. Los centrocampistas anchos también mostraron un aumento de los niveles de testosterona con el aumento de la carga de entrenamiento.	Los aumentos de la carga de entrenamiento afectan significativamente a los niveles hormonales, especialmente a un aumento del cortisol y la testosterona en los defensores centrales y a cambios en la relación testosterona: cortisol.
Saidi et al. (2022)	14 futbolistas de élite (Edad: 20.9 ± 0.8 años; Altura: 177 ± 5 cm; Peso: 72.4 ± 5.2 kg)	12 semanas (T1-T2: 6 semanas regulares; T2-T3: 6 semanas congestionadas)	Partidos y entrenamientos	CRP, CK, Creatinina	Evaluaciones en T1 (semana 1), T2 (semana 6) y T3 (semana 12).	Aumento significativo del estrés, la fatiga, el DOMS y el índice Hopper durante el periodo de congestión. Correlaciones notables entre $\Delta\%$ de CRP, $\Delta\%$ de CK, Índice Hopper, y $\Delta\%$ de fatiga.	El aumento de los marcadores bioquímicos y los cambios en el bienestar durante los periodos de congestión indican una relación directa con la carga de entrenamiento. El seguimiento de estos parámetros es vital para evitar el sobreentrenamiento y optimizar el rendimiento.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Schelling et al. (2009)	Equipo élite masculino de baloncesto (27.8 ± 4.8 años; 97 ± 9.5 kg; 197.2 ± 7.3 cm)	Durante la temporada competitiva	Partidos y entrenamientos	Testosterona, Cortisol, y Testosterona/Cortisol ratio (T:C).	4-6 semanas (8 muestras)	Aumento del cortisol en pretemporada (+33%) y manteniendo durante toda la temporada ($0.393 - 0.516$ mmol/l). Aumento* de la testosterona tras 3.5 días de descanso y disminución** al final de la temporada ($20.6 - 24.9$ frente a 18.0 mmol/l). Disminución* de la relación T/C al final de la temporada ($48.0 - 61.7$ vs 35.4).	El cociente T/C y/o la testosterona podrían utilizarse como indicadores del estado de ser utilizados como indicadores del estado de recuperación, y ayudar a optimizar las cargas de entrenamiento individualizadas para evitar episodios de fatiga excesiva.
Schelling et al. (2015)	20 jugadores élite de baloncesto	Cuatro temporadas consecutivas	Partidos y entrenamientos de la temporada regular	Niveles de testosterona total (TT) y cortisol (C) en plasma sanguíneo, relación testosterona-cortisol (TT/C).	Se recogieron muestras de sangre periódicamente cada 4-6 semanas. Siempre después de un descanso de 24 a 36 horas tras el último partido jugado.	Se observa que los niveles hormonales de los jugadores élite de baloncesto dependían de su posición. Los aleros potentes (AP) mostraron los niveles más bajos de testosterona total (TT) (mediana 18.1 ± 4.9 nmol/L), mientras que los aleros pequeños tuvieron los niveles de cortisol más altos (0.55 ± 0.118 mmol/L). Los jugadores con 13-25 minutos de juego por partido mostraron los niveles más altos de TT (22.8 ± 6.9 nmol/L) y de TT/C (47.1 ± 21.2). El estado hormonal más estresado, caracterizado por niveles bajos de TT/C y altos de cortisol, se observa en marzo y abril, lo que pone de relieve la necesidad de una gestión adaptada en función del tiempo de juego y posición.	La monitorización de la TT y el cortisol plasmático es crucial para controlar el estrés inducido por las exigencias de una temporada de baloncesto élite. El estado hormonal varía según la posición de juego y el tiempo de juego, lo que influye en las estrategias de entrenamiento y recuperación.
Sougliis et al. (2015)	72 jugadores masculinos de élite de cuatro deportes de equipo (fútbol, baloncesto, voleibol y balonmano)	Inicio de la temporada regular.	Partidos.	TNF α , IL-6, CRP, CK, LDH, Urea, Amoníaco, Cortisol	Antes, después, 13h y 37h tras el partido.	El fútbol mostró el mayor aumento de citocinas inflamatorias y marcadores de daño muscular. El voleibol mostró el menor aumento en comparación con los otros tres deportes.	Los partidos de fútbol élite imponen mayores exigencias metabólicas y provocan mayores respuestas inflamatorias y daños musculares en comparación con el balonmano, el baloncesto y el voleibol.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Spanidis et al. (2016)	14 jugadores adultos de baloncesto (edad, 26.8±1.2 años; altura, 1.99±0.02 m; , 101.6±2.63 kg)	Temporada interior	Regular season matches and training.	Marcadores de estrés oxidativo (TAC, TBARS, GSH, CARB y sORP)	Inicio y final de temporada	Aumento de los valores de Sorp* (200 frente 220 mV; 9.6%) y TAC* (0.8 vs. 1.0 mmol/l; 12.9%) al final de la temporada. Disminución* del GSH (3.7 frente a 2.5 mmol/g; 35%) al final de la temporada. Gran variación interindividual en TBARS, CARB de TBARS, CARB, TAC. Elevada correlación*** entre sORP y CARB (r=0.798).	El sORP puede ayudar a monitorizar el estado de redox de un grupo de atletas, con mayor exhaustividad que el TAC. Se requiere un examen individualizado del estado de redox mediante TBARS, CARB Y TAC para identificar los periodos críticos de recuperación de cada atleta.
Springham et al. (2021)	28 futbolistas élitemasculinos de alto nivel (Edad: 24 ± 3.8 años; Estatura: 181 ± 7.0 cm; Masa corporal: 72.4 ± 5.2 kg).	Una pretemporada de 6 semanas y una temporada de 40 semanas, dividida en ocho mesociclos de 5 semanas.	Temporada Regular de partidos y entrenamientos.	Inmunoglobulina-A salival (s-IgA), α-amilasa (s-AA), testosterona (s-T), cortisol (s-C) y relación testosterona: cortisol (s-T:C); Medidas de Autoinforme del Atleta (ASRM)	Recogida en quincenas tras los días de recuperación.	El estudio halló pequeñas reducciones en la inmunoglobulina-A salival (P=0.003), α-amilasa (P=0.047) y cortisol (P=0.007), con cambios triviales en la testosterona. La relación testosterona: cortisol varió inversamente con la carga de trabajo. La fatiga autodeclarada, la calidad del sueño y las agujetas mejoraron durante la primera mitad de la temporada (P=0.030 a P=0.005, efecto pequeño). Los cambios hormonales se correlacionaron con los autoinformes (R ² = 0.43 a 0.45), relacionándose el cortisol con peores informes y la testosterona: cortisol con mejores informes. Se hallaron relaciones no lineales entre algunas hormonas y los autoinformes, lo que indica niveles óptimos para obtener las mejores respuestas.	Se observó una supresión crónica de la inmunidad de las mucosas. Las medidas salivales se relacionaron con las medidas de autoinforme, lo que indica la necesidad de reducir la carga de trabajo para mejorar el bienestar. La monitorización de s-IgA, s-T, s-C y s-T:C puede ser eficaz para evaluar el estado de salud y rendimiento de los jugadores.

Tabla 4. Características de los estudios.

Estudio	Muestra	Periodo	Tipo	Test	Freq de los tests	Resultados	Conclusiones
Talae et al. (2017)	15 jugadores de baloncesto (Edad: 24±1.5 años; peso: 83±3.3 kg; altura: 188±6.1 cm)	6 semanas	Entrenamiento combinado	RBC, Hb, Hct, MCV, MCH, WBC, PLT, MCHC	Antes, después y 24 horas después del entrenamiento.	Aumento significativo de los recuentos de glóbulos blancos y plaquetas en dos etapas; post-entrenamiento y 24 horas después de la recuperación. La hemoglobina, el hematocrito y el recuento de glóbulos rojos disminuyeron significativamente tras 24 horas de recuperación.	El entrenamiento combinado desempeña un papel importante en los procesos de adaptación fisiológica y hematológica, mejorando el rendimiento atlético. La prescripción de este método de entrenamiento debe ir acompañada de un control bioquímico sanguíneo regular para equilibrar el estrés del ejercicio y las estrategias de recuperación.
Tiernan et al. (2020)	19 jugadores de rugby union de élite.	durante un periodo de formación de 10 semanas	Entrenamiento	Enfermedad de las vías respiratorias (URI), inmunoglobulina A salival (SIgA)	Se recogieron muestras de saliva dos veces a la semana, lunes y viernes, 1 h después de que los jugadores se despertaran, Antes del entrenamiento.	No se encontraron diferencias significativas en los niveles semanales de SIgA a lo largo del periodo de 10 semanas. La probabilidad de padecer una URI aumentó cuando el SIgA disminuyó significativamente ($p = 0.046$).	Una disminución de >65% de SIgA significaba que los jugadores estaban en riesgo en las siguientes 2 semanas de contraer una URI.
Twist et al. (2012)	23 jugadores masculinos de la liga de rugby. Se clasificaron como backs (n=10; edad 25.9 ± 5.1 años; altura 1.82 ± 0.08 m; masa corporal 91.9 ± 11.6 kg) y delanteros (n=13; edad 26.0 ± 4.1 años; estatura 1.83 ± 0.06 m; masa corporal 102.0 ± 6.7 kg)	Liga Europea de Rugby en la temporada de Superliga	Partidos	Creatina Kinasa (CK)	Evaluaciones realizadas antes del partido, un día después (día 1) y dos días después del partido (día 2).	La Creatina Kinasa era más alta 1 y 2 días después que antes de los partidos ($P < 0.05$) en los delanteros y backs.	A pesar de que los mecanismos de la fatiga son diferentes entre los delanteros y los backs, nuestros resultados ponen de relieve la naturaleza multidimensional de la fatiga tras un partido de liga de rugby y que el marcador no difiere entre posiciones.

Nota: AOPP (Productos de oxidación avanzada de proteínas), ASRM (Medidas de autoinforme del atleta), CARB (Carbonilos proteínicos), CAT (Actividad de la catalasa), CK (Creatina kinasa), CRP (Proteína C-reactiva en plasma), Cortisol (Cortisol), DOMS (Dolor muscular de aparición tardía), GSH (Glutatión reducido), GSSG (Glutatión oxidado), HB (Hemoglobina), Hct (Hematocrito), IL-6 (Interleucina-6), IMA (Albumina modificada por isquemia), LDH (Lactato deshidrogenasa), MCH (Hemoglobina corpuscular media), MCHC (Concentración media de hemoglobina corpuscular), MCV (Volumen corpuscular medio), NEFA (Ácidos grasos no esterificados), PC (Carbonilos proteicos), PLT (Plaquetas sanguíneas), PF (Alas-pivote), RBC (Glóbulos rojos), SIgA (Inmunoglobulina A salival), TAC (Capacidad antioxidante total), TBARS (Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico), TL (Carga de entrenamiento), TNFα (Factor de necrosis tumoral alfa), T (Testosterona), T:C (Relación testosterona/cortisol), TT (Testosterona total en plasma sanguíneo), URI (Infecciones de las vías respiratorias), WBC (Glóbulos blancos), hs-CRP (Proteína C-reactiva de alta sensibilidad), s-AA (α-Amilasa salival), s-C (Concentración de cortisol salival), s-Lys (Lisozima salival) y sORP (Marcador de potencial de óxido-reducción estático).

2. RESULTADOS ESTUDIO II

2.1 Carga Aguda

La Figura 5 muestra el efecto del entrenamiento y los partidos en los valores pre y post en las variables bioquímicas evaluadas durante el periodo de calendario congestionado. Se encontraron valores más altos después de las sesiones en la proteína total, con un efecto moderado en ambos contextos (entrenamiento: $t = -6.85$, $p < 0.01$, $d = 0.73$; partido: $t = -4.15$, $p < 0.01$, $d = 0.52$) y en la SIgA, con un efecto alto en los partidos ($t = -3.09$, $p < 0.01$, $d = 1.09$) y un efecto moderado en el entrenamiento ($t = -2.95$, $p < 0.01$, $d = 0.52$). Además, se encontró un efecto bajo con valores más altos después de los partidos en el TAC ($t = -3.67$, $p < 0.01$, $d = 0.46$). No se encontraron efectos en el TAC durante las sesiones de entrenamiento ni en el TOS y el índice de estrés oxidativo en ambos escenarios.

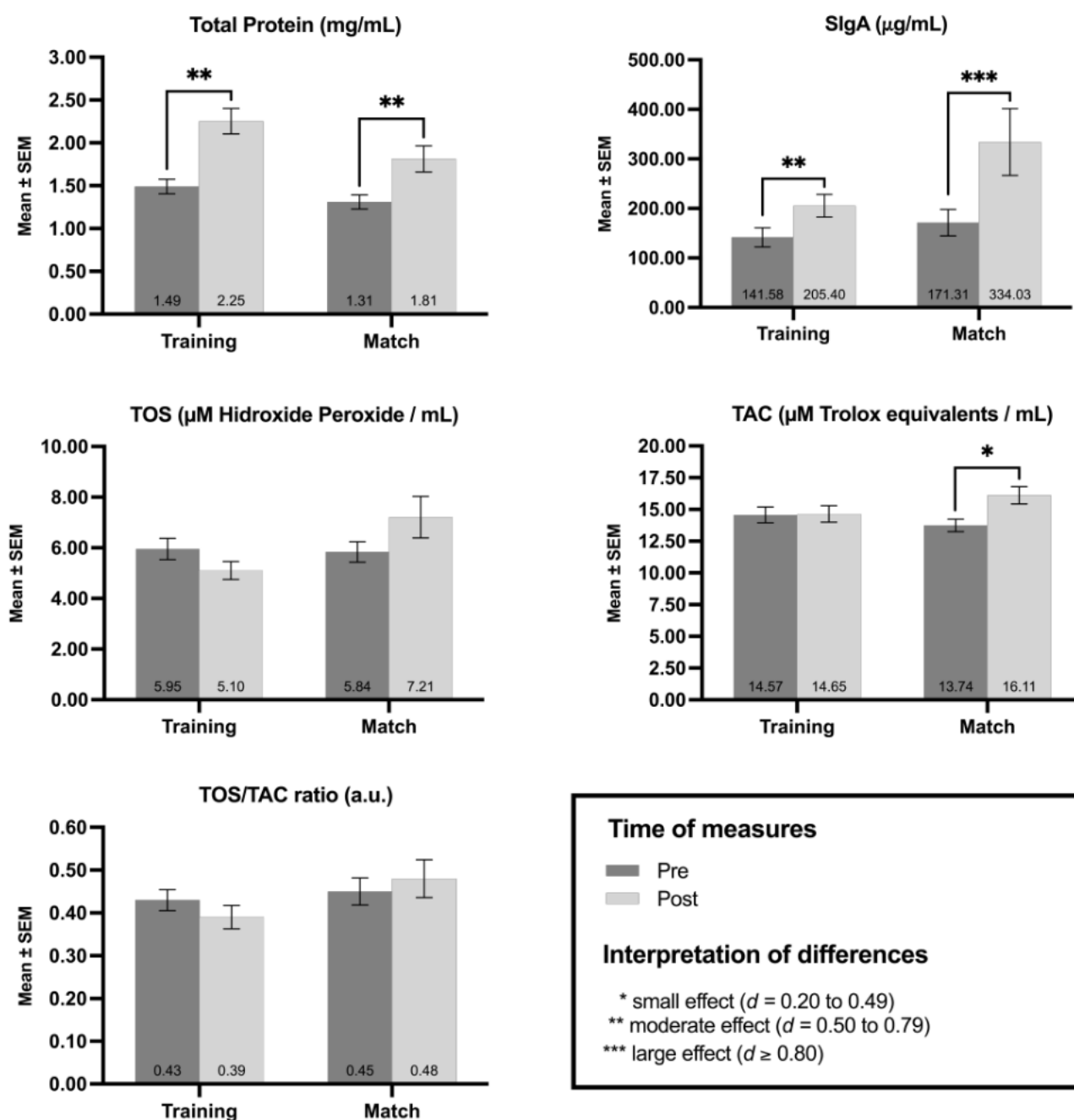


Figura 5. Ilustración de los niveles de fatiga aguda antes y después de las sesiones, tanto en contextos de entrenamiento como de partido, centrándose en las variables inmunológicas y oxidativas. Algunas notas: SIgA significa inmunoglobulina A salival, TOS se refiere al estado oxidante total y TAC es la capacidad antioxidante total. Los resultados indican diferencias significativas, con las siguientes interpretaciones de la d de Cohen: pequeña ($d = 0,2$ a $0,49$), media ($d = 0,5$ a $0,79$) y grande ($d \geq 0,8$).

Las diferencias en los efectos agudos entre los contextos de entrenamiento y de partido con respecto a los marcadores bioquímicos se detallan en la Tabla 5. Se observó que había un mayor nivel de fatiga aguda

durante los partidos, mostrando un efecto moderado en SIgA y un efecto bajo en TAC y TOS. Curiosamente, no se observó ningún efecto significativo en la proteína total y el índice de estrés oxidativo al comparar los diferentes contextos de sesión

Tabla 5. Prueba t de medidas independientes para evaluar las diferencias en el efecto agudo entre los contextos de entrenamiento y partido.

	Entrenamiento M±SD	Partido M±SD	<i>t</i>	<i>p-Value</i>	<i>Cohen's d</i> (effect)
Proteína Total	0.76±1.04	0.50±0.97	1.55	0.13	0.15 (trivial)
SIgA	63.81±122.46	162.73±149.01	-1.96	0.04	0.77 (moderate)
TAC	0.09±4.73	2.37±5.12	-2.84	<0.01	0.47 (low)
TOS	-0.85±3.37	1.37±5.66	-2.37	0.02	0.49 (low)
TOS/TAC ratio	-0.04±0.20	0.03±0.32	-1.18	0.24	0.13 (trivial)

Note. SIgA: Inmunoglobulina A salival; TOS: Estado oxidante total; TAC: Capacidad antioxidante total. *t* = estadístico *t*, *p* = valor *p*. Se considera significancia estadística con un valor $p \leq 0.05$. El tamaño del efecto de Cohen se interpreta como: pequeño ($d = 0.2$ a 0.49), mediano ($d = 0.5$ a 0.79) y grande ($d \geq 0.8$).

2.2 Carga crónica

La figura 6 muestra la dinámica de los marcadores bioquímicos a lo largo de una semana durante el periodo de partido congestionado en cuatro momentos: (1) antes del partido; (2) después del partido; (3) 48 h después del partido; y (4) 120 h después del partido. Se encontraron diferencias estadísticas con un gran tamaño del efecto en las variables proteína total ($F = 47,02$; $p < 0,01$; $\omega p^2 = 0,81$) y SIgA ($F = 14,69$; $p < 0,01$; $\omega p = 0,56$). El TOS, el TAC y el índice de estrés oxidativo no presentaron diferencias entre los momentos de evaluación ($F < 0,77$; $p > 0,52$; $\omega p^2 < 0,01$).

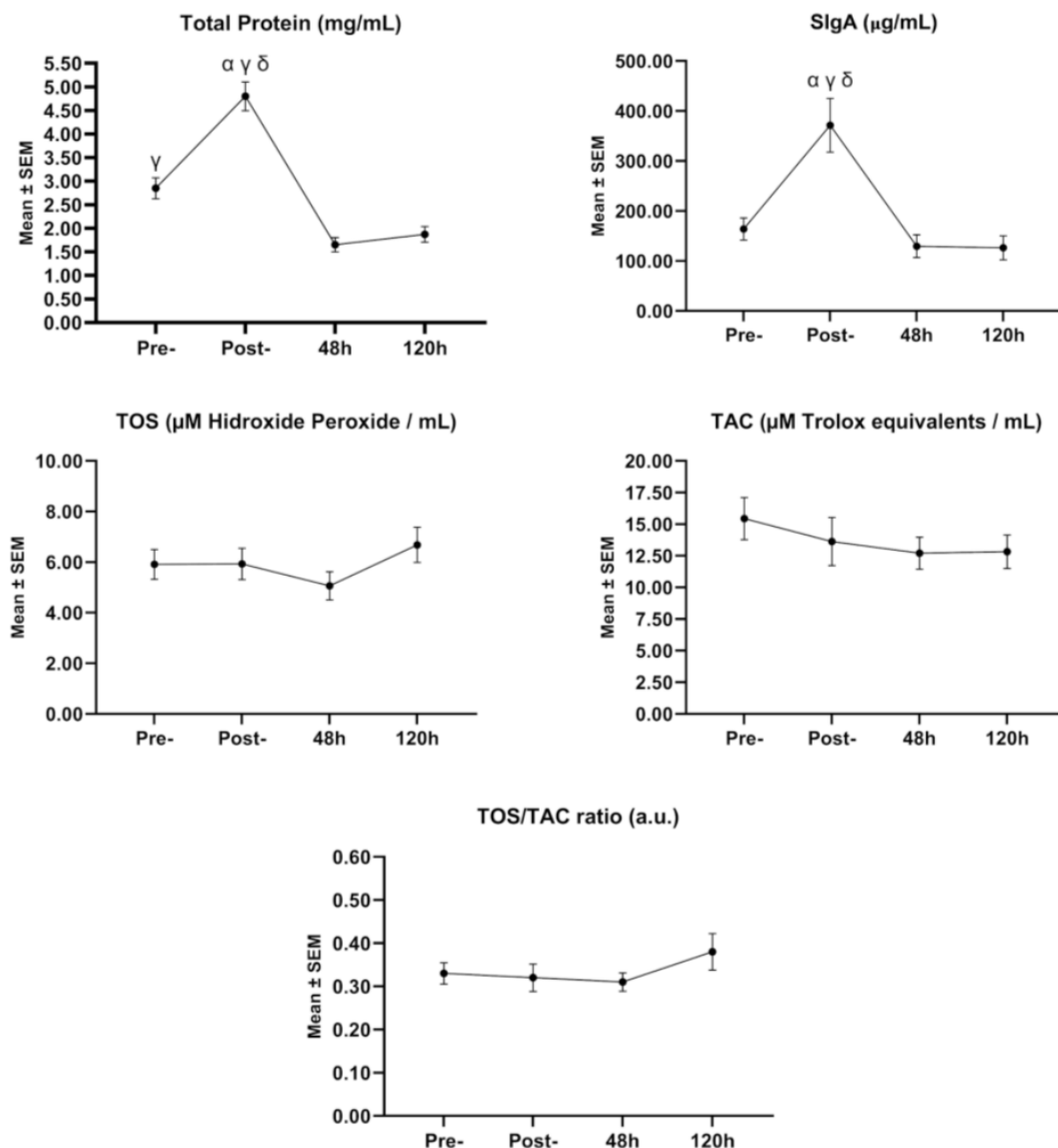


Figura 6. Dinámica de los marcadores inmunológicos y oxidativos en cuatro momentos a lo largo del periodo de encuentro con alta concentración de jugadores (pre: prepartido; post: postpartido; 48 h: 48 horas después del partido; 120 h: 120 horas después del partido). Nota: SIgA: Inmunoglobulina A salivar; TOS: Estado oxidante total; TAC: Capacidad antioxidante total. α: Diferencias estadísticas respecto a la condición prepartido ($p < 0,05$); β: Diferencias estadísticas respecto a la condición postpartido ($p < 0,05$); γ: Diferencias estadísticas respecto a la condición 48 h después del partido ($p < 0,05$); δ: Diferencias estadísticas respecto a la condición 120 h después del partido ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS ESTUDIO III

3.1 Características básicas de los jugadores de fútbol

Los marcadores bioquímicos de esfuerzo (TAC, TOC, TOC/TAS), inmunológicos (SIgA /Proteína total) y los datos cardíacos y de esfuerzo (FC avg/max/min, El “Player Load”, RMSSD) se muestran en la tabla 6.

La respuesta aguda al entrenamiento también puede deducirse de estos datos comparando los valores previos y posteriores al entrenamiento. El contenido total de proteínas aumentó después del entrenamiento, probablemente por una activación simpática o por deshidratación. La relación TOS/TAC se mantuvo prácticamente idéntica. En cambio, se observó una disminución del TAC después del entrenamiento, probablemente porque se utilizaron antioxidantes para neutralizar las ERO generadas durante el entrenamiento. Inesperadamente, también se observó una disminución de la TOS. Dos hipótesis pueden explicar este resultado. Por un lado, la intensidad de las sesiones de entrenamiento fue baja y no suficiente para compensar el TAC. Por otro lado, puede tratarse simplemente de una respuesta adaptativa en atletas bien entrenados. De hecho, la concentración de SIgA también aumentó al final del periodo de entrenamiento, lo que indica que el entrenamiento no causó inmunosupresión, otro indicador de que los jugadores estaban bien recuperados y adaptados al entrenamiento. De hecho, los parámetros funcionales como los indicadores de ratio cardíaco fueron muy bajos, lo que indica que los jugadores tenían una elevada aptitud aeróbica. La media de Ln (RMSSD), un marcador de la actividad parasimpática, también situó a los jugadores dentro de un rango bastante saludable, lo que probablemente sugiere que no se encontraban en un estado de sobre-esfuerzo o fatiga.

Tabla 6. Valores medios de los diferentes parámetros evaluados en los jugadores de fútbol sala.

Total (n=111)	Media (sd)	Mediana	(min – max)
<i>Parámetros bioquímicos</i>			
Total protein -pre (mg/mL)	1.49 (0.79)	1.4	(0.18 - 3.28)
TAC -pre	15.16 (6.58)	13.54	(4.9 - 49.59)
TOS -pre	7.9 (7.1)	6.04	(0.86 - 54.55)
SlgA -pre	176.72 (117.17)	159.7	(0.0 - 674.75)
SlgA/Tprot -pre	165.23 (185.77)	119.5	(0.0 - 1332.5)
TOS/TAC -pre	0.55 (0.4)	0.45	(0.0 - 2.05)
Total protein -post	2.3 (1.63)	1.98	(0.19 - 10.78)
TAC -post	14.73 (5.91)	13.3	(5.52 - 30.79)
TOS -post	6.62 (5.06)	5.94	(0.77 - 32.14)
SlgA -post	216.96 (142.46)	198.79	(31.84 - 762.38)
SlgA/Tprot -post	133.69 (121.58)	105.88	(8.89 - 698.92)
TOS/TAC -post	0.46 (0.33)	0.4	(0.0 - 2.22)
Δ Total protein	0.81 (1.27)	0.42	(-1.6 - 8.85)
Δ TAC	-0.44 (5.68)	0.03	(-34.97 - 11.08)
Δ TOS	-1.28 (6.18)	-1.06	(-40.5 - 21.62)
Δ SlgA	40.24 (161.48)	34.13	(-464.31 - 474.18)
Δ SlgA/Total protein	-31.53 (149.43)	-3.85	(-633.58 - 413.79)
Δ TOS/TAC	-0.1 (0.37)	-0.08	(-1.39 - 1.45)
<i>Parámetros funcionales</i>			
HR max (bpm)	78.35 (13.22)	78.35	(52.0 - 115.0)
HR min (bpm)	63.43 (11.33)	63.43	(42.0 - 102.0)
HR avg (bpm)	69.98 (12.06)	69.98	(44.91 - 103.33)
R-S Ps	0.43 (0.52)	0.31	(0.01 - 4.23)
Ln (RMSSD)	3.93 (0.63)	3.93	(2.29 - 6.3)
Player Load	52.28 (18.55)	53.19	(12.19 - 92.53)

Los datos se presentan como media (desviación estándar). También se muestran la mediana y el rango (mínimo-máximo). Δ (Delta) representa la diferencia entre el valor final y el basal. Ig. (Inmunoglobulina). Ln(RMSSD) (Logaritmo natural de la raíz cuadrada de la media de las diferencias sucesivas entre intervalos R-R, una medida de variabilidad de la frecuencia cardíaca). R-S|Ps (Sistema nervioso simpático-parasimpático). TAC (Capacidad antioxidante total). TOS (Estado oxidativo total).

3.2 Relación entre las variables internas y el “Player Load”

Una vez depurado el conjunto de datos en busca de colinealidad, las variables restantes se evaluaron mediante un análisis de correlación estimando los coeficientes de Pearson para evaluar la relación entre las variables internas y el “Player Load”. De estas variables, el contenido proteico total mostró la mayor correlación con el “Player Load”, de forma inversa. El cambio en TAC y Ln (RMSSD) también se asociaron con cambios en el “Player Load”, aunque en estos casos, el valor p de la correlación no alcanzó el nivel de significación estadística (Figura 7).

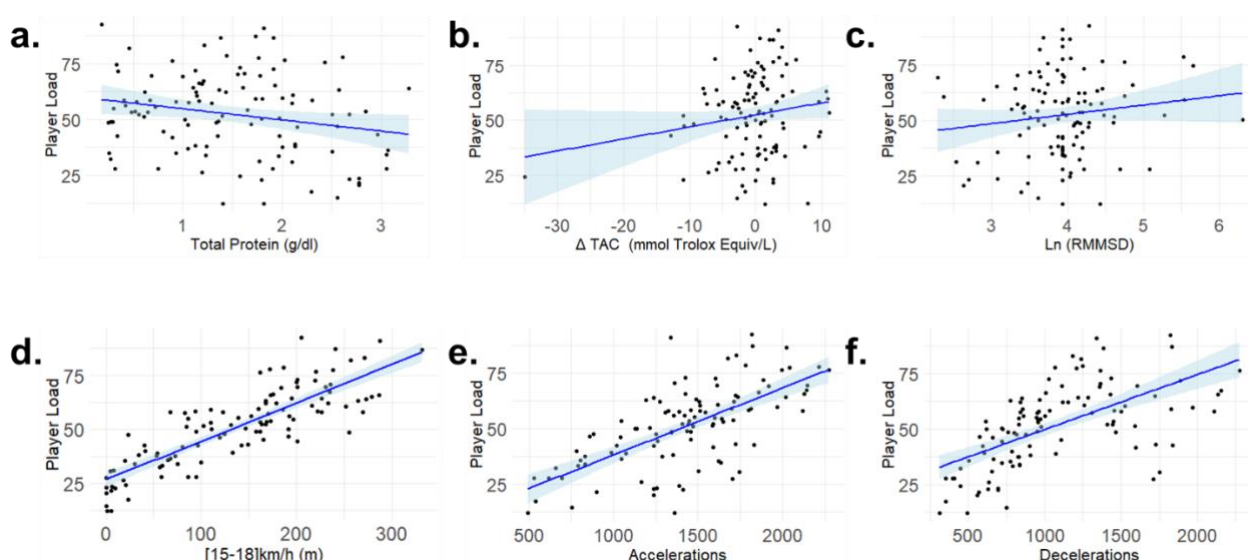


Figura 7. Diagrama de dispersión Diagrama de dispersión que muestra la correlación entre las variables intrínsecas (a-c) y extrínsecas (d-f) con el “Player Load”. Los puntos individuales se muestran como puntos negros. La línea continua azul representa el mejor ajuste de un modelo de regresión lineal. El área azul claro representa el intervalo de confianza del 95% para la línea de regresión.

El siguiente paso fue desarrollar un modelo de regresión lineal para predecir el “Player Load” de fútbol sala en las diferentes sesiones de entrenamiento, atendiendo a las variables intrínsecas (Tabla7).

Tabla 7. Modelo de regresión lineal utilizando la Carga del Jugador como variable dependiente y los parámetros intrínsecos como variables independientes. El análisis se realizó sólo con aquellas variables que mostraban baja colinealidad y un VIF < 5.

Término	Estimación	SE	t valor	Pr(> t)
(Intercept)	53.3500	2.0155	26.470	<2e-16 ***
Total protein -pre	-4.4826	2.6376	-1.700	0.0934 .
TAC -pre	-0.2876	3.1417	-0.092	0.9273
Ig. A -pre	-1.2459	2.8739	-0.434	0.6659
HR max	0.4420	4.5355	0.097	0.9226
HR min	-1.4022	4.6747	-0.300	0.7650
R-SIPs	2.4628	2.7165	0.907	0.3676
Ln (RMSSD)	4.1548	2.6578	1.563	0.1223
Δ Total protein	5.4666	3.7665	1.451	0.1509
Δ TAC	4.6193	3.0103	1.535	0.1292
Δ TOS	-6.9893	5.6557	-1.236	0.2204
Δ Ig. An	-6.6895	3.7339	-1.792	0.0773 .
Δ Ig.A/Total protein	3.8527	2.9874	1.290	0.2012
Δ TOS/TAC	6.4353	4.6306	1.390	0.1688

Nota. Códigos signif.: 0 '****' 0,001 '***' 0,01 '**' 0,05 '.' 0,1. R-cuadrado múltiple: 0,1583, R-cuadrado ajustado: 0.01046. Estadístico F: 1,071 en 13 y 74 DF, valor p: 0,3972.

Desafortunadamente, ninguna variable intrínseca fue capaz de mostrar una interacción estadísticamente significativa con el “Player Load”, aunque la proteína total y el cambio en la SIgA se asociaron marginalmente con el “Player Load”(p < 0,10). Más importante aún, el propio modelo de regresión no resultó significativo (p = 0,397), lo que nos llevó a desarrollar dos modelos de aprendizaje automático (ML), mediante los algoritmos random forest y gradient boosting (Figura 8). Atendiendo a este procedimiento, la Proteína Total fue el factor más importante en relación a la Carga en los algoritmos bot RD y GB. El cambio en la TAC desde el final al inicio de la sesión de entrenamiento también fue relevante. Sin embargo, el modelo RF identificó la SIgA como determinante importante de el “Player Load” (Figura 8).

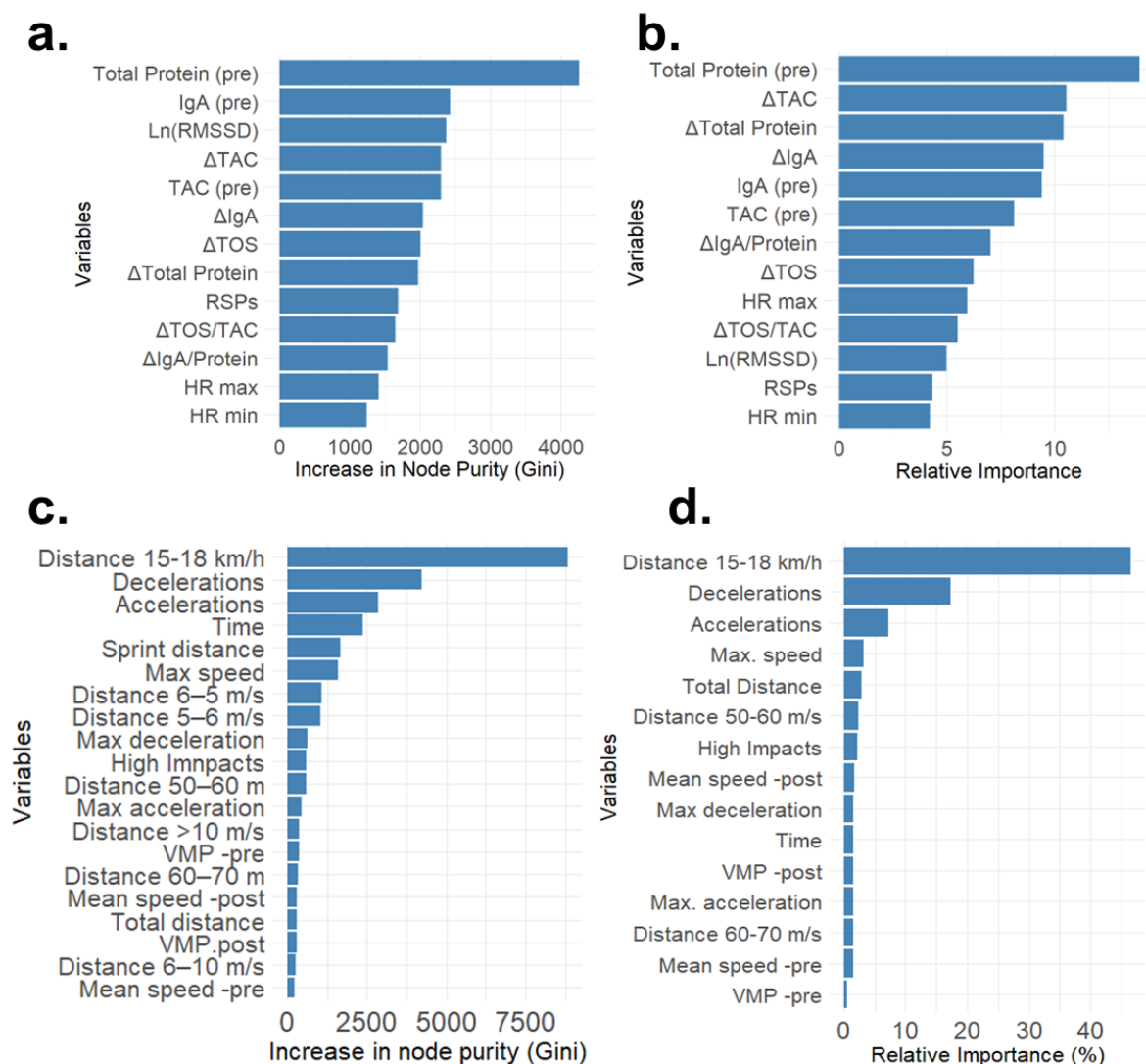


Figura 8. Importancia de las variables intrínsecas y extrínsecas en la predicción de el “Player Load” de fútbol sala mediante los métodos random forest (RF) y gradient boosting (GB). Los recuadros a-b representan los modelos basados en variables intrínsecas, y los recuadros c-d los de variables extrínsecas. La importancia de las distintas variables en los modelos RF (a-c) se calculó mediante el aumento de la pureza de los nodos, y la importancia en el modelo GB (b-d) se estimó mediante el parámetro de importancia relativa.

Para evaluar el desempeño del modelo, se realizó una validación cruzada de 10 pliegues, proporcionando las siguientes métricas: un error cuadrático medio (RMSE) de 9.23, un coeficiente de determinación (R^2) de 0.78 y un error absoluto medio (MAE) de 7.33. Estos resultados indican que el modelo explica aproximadamente el 78% de la varianza en el Player Load y tiene un error promedio de predicción de 7.33 a 9.23 unidades, lo cual sugiere una precisión razonable en la predicción del esfuerzo físico de los jugadores. No obstante,

los errores en la predicción sugieren que otros factores aún no considerados podrían mejorar la precisión del modelo.

En resumen, el modelo de Random Forest muestra un desempeño adecuado con un 74.88% de varianza explicada y un MSE de 80.28 en la predicción del Player Load, aunque es verdad que el valor de MSE es demasiado alto, y podría mejorarse. Respecto a la importancia relativa de las variables, según el modelo de Random Forest, tal y como se observa en la Figura 8, la variable `[15-18]km/h (m)` fue la que influye más significativamente a la hora de predecir Player Load, seguido de decelerations y accelerations. El modelo de gradient boosting también reflejó las mismas variables como las más representativas del modelo (Figura 8).

3.3 Relación entre las variables externas e internas y el “Player Load”

Al contrario de lo que ocurrió con las variables intrínsecas, muchas variables extrínsecas mostraron una asociación estadísticamente significativa con el “Player Load”. Concretamente, la distancia entre 15-18 Km/h, las deceleraciones, las aceleraciones, la velocidad máxima mostraron una asociación lineal positiva con el “Player Load”. De nuevo, el análisis de regresión para predecir el “Player Load” a través de variables externas mostró un mejor rendimiento, ya que, en esta ocasión, se obtuvo un modelo significativo que explicaba hasta el 85% de la variabilidad del “Player Load”. Concretamente, los parámetros [15-18]km/h y desaceleraciones se identificaron como predictores independientes de el “Player Load”. Al igual que con las variables intrínsecas, se llevaron a cabo dos modelos ML para comprender mejor las interacciones entre las variables. En este caso, ambos modelos identificaron la distancia entre 15-18 Km/h, las desaceleraciones y las aceleraciones como las variables externas más relevantes (Figura 9).

Aunque las variables extrínsecas explican la mayor variabilidad de el “Player Load”, teniendo en cuenta la relevancia de varias variables intrínsecas, hemos intentado desarrollar un modelo global que combine ambos tipos de variables. En este sentido, la distancia [15-18]km/h fue de nuevo la variable más relevante, seguida de las desaceleraciones y aceleraciones, respectivamente, como se esperaba de las observaciones anteriores. Cuando se llevaron a cabo los procedimientos de ML combinando estas variables, se obtuvieron observaciones similares. De nuevo, la distancia de 15-18 km/h fue la variable más relevante en ambos algoritmos, pero, aunque la proteína total también fue relevante para el gradient boosting, su influencia en el modelo RF fue menor, aunque siguió siendo significativa.

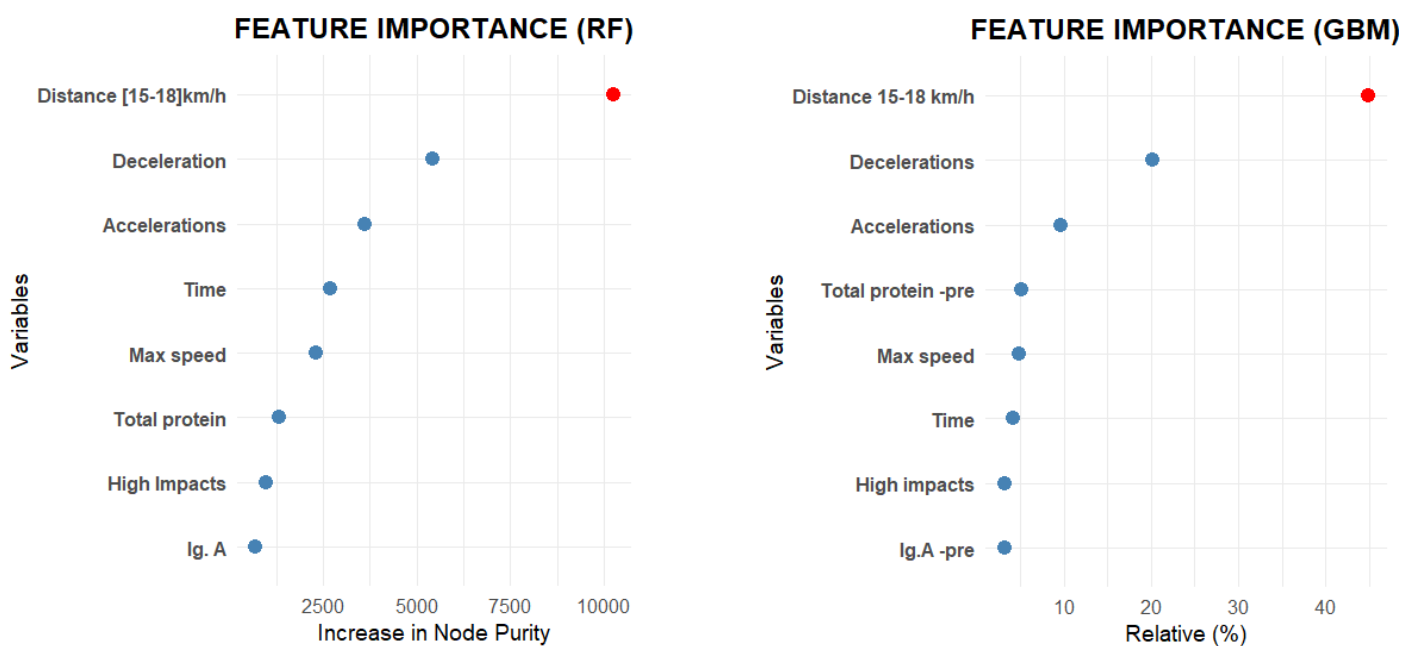


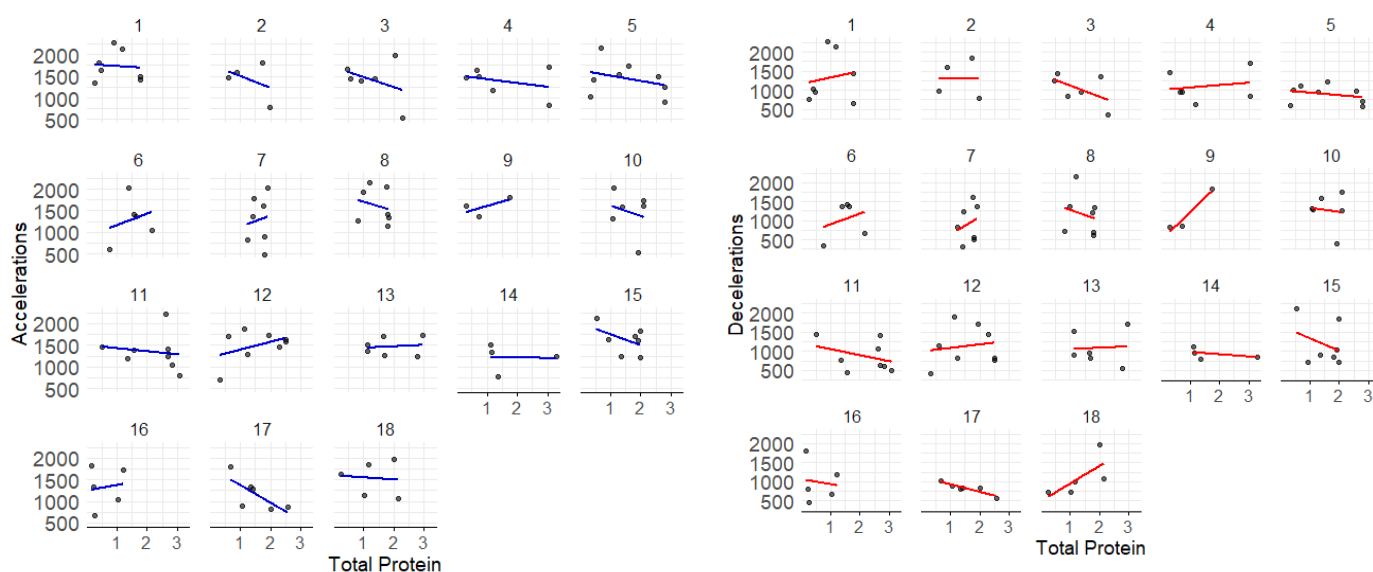
Figura 9. Modelo Random Forest considerando variables intrínsecas y extrínsecas atendiendo al algoritmo random forest (RF, panel izquierdo) y al gradient boosting (GBM, panel derecho).

3.4 Análisis de la interacción entre variables internas y externas

Teniendo en cuenta la mayor influencia de las variables externas, quisimos explorar más en profundidad la interacción entre variables internas y externas. En este sentido, como la proteína total era la variable interna más

relevante, evaluamos en cada jugador la relación entre ésta y las principales variables externas en cada jugador de fútbol sala.

La figura 10 muestra un diagrama de dispersión para cada jugador (paneles 1 a 18), donde cada punto representa una sesión, y la línea de regresión indica la tendencia individual. Tanto para la aceleración como para la desaceleración, la relación con los valores totales de proteínas fue muy errática, con relaciones positivas, negativas y otras prácticamente inexistentes. Además, es preocupante la gran variabilidad entre sesiones, que puede limitar la influencia de las variables internas en los distintos análisis estadísticos. Esta variabilidad interindividual podría estar influida por diversos factores, como la condición física, el estado de recuperación, la tolerancia al esfuerzo o el contexto de la sesión. En cualquier caso, estos resultados subrayan la importancia de tener en cuenta los perfiles individuales a la hora de interpretar el “Player Load” y abren la puerta a estrategias de seguimiento personalizadas que integren indicadores tanto externos como internos para optimizar el rendimiento y evitar el sobreentrenamiento.



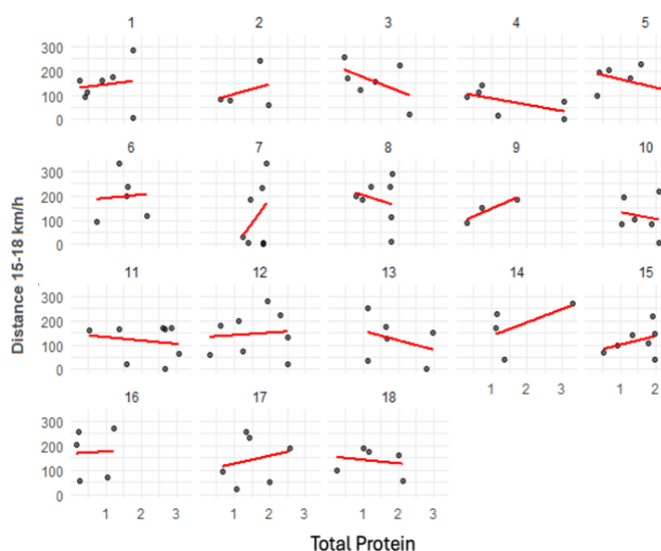


Figura 10. Relación entre aceleraciones (panel izquierdo), desaceleraciones (panel derecha) distancia 15-18km/h (panel inferior) y proteína salival total en los diferentes jugadores. Cada panel muestra datos individuales de cada sesión y la línea de regresión ajustada para cada jugador. Este análisis exploratorio permite observar posibles patrones individuales en la relación entre una variable externa y una variable fisiológica (Proteína Total), poniendo de manifiesto la heterogeneidad interindividual en la respuesta a la carga física.

PARTE V.

DISCUSIÓN

1. DISCUSIÓN ESTUDIO I

Este estudio tuvo como objetivo sistematizar y analizar la evidencia científica existente sobre los biomarcadores primarios más utilizados en atletas élite de equipo para detectar la fatiga inducida por las exigencias físicas del entrenamiento y la competición. Este estrés físico y fisiológico es una respuesta directa al ejercicio, que puede experimentarse tanto durante el entrenamiento como durante la competición y conduce a niveles elevados de fatiga (133). La naturaleza multifactorial y compleja de la fatiga requiere un análisis exhaustivo de diversos biomarcadores, como se resume en la Tabla 8. Esta tabla ofrece una visión general de las categorías clave de biomarcadores, incluyendo hormonas anabólicas/catabólicas musculares, marcadores de daño muscular, marcadores inmunológicos, marcadores de estrés oxidativo y marcadores inflamatorios, junto con su relevancia para la evaluación de la fatiga crónica y los métodos de medición habituales. Al examinar estos diversos biomarcadores, podemos obtener una comprensión más integral de las respuestas fisiológicas a las cargas de entrenamiento y competición. Este riguroso análisis es vital para determinar el grado de adaptación fisiológica de los atletas, reduciendo eficazmente los riesgos asociados con el sobreentrenamiento no funcional, las lesiones o las enfermedades relacionadas con la acumulación prolongada de fatiga (134). El análisis de estos biomarcadores, junto con los datos de carga de trabajo, proporciona un enfoque más integral para monitorear y gestionar la fatiga de los atletas en deportes de equipo élite(134).

Tabla 8. Resumen de biomarcadores clave para la evaluación de la fatiga crónica en atletas élite de deportes de equipo.

Categoría de Biomarcador	Biomarcadores Específicos	Relevancia para la Fatiga Crónica	Método Típico de Medición
Hormonas anabólicas/catabólicas musculares	Testosterona, Cortisol, Relación Testosterona/Cortisol	Reflejan la carga metabólica y las respuestas al estrés por entrenamiento o competencia	Muestras de sangre o saliva; ELISA o radioinmunoanálisis
Marcadores de daño muscular	Creatina quinasa (CK), Lactato deshidrogenasa (LDH)	Cuantifican el grado de daño muscular inducido por el ejercicio	Muestras de sangre; Espectrofotometría
Marcadores inmunológicos	Inmunoglobulina A salival (s-IgA), Función de células inmunes	Indican el estado de la inmunidad mucosal y la posible vulnerabilidad a infecciones respiratorias	Muestras de saliva; ELISA
Marcadores de estrés oxidativo	Especies reactivas de oxígeno, Capacidad antioxidante, TBARS, Carbonilos proteicos	Evalúan el estrés celular y el equilibrio redox	Muestras de sangre; Espectrofotometría, ELISA
Marcadores inflamatorios	Proteína C-reactiva (CRP), Citocinas (por ejemplo, IL-6, TNF- α)	Indican respuestas inflamatorias sistémicas ante entrenamientos intensos y prolongados	Muestras de sangre; ELISA, Citometría de flujo

Nota. ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; IL-6: Interleucina-6; TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa.

1.1. Marcadores hormonales

La relación entre los marcadores hormonales y las cargas de entrenamiento/competición se evaluó en 15 de los estudios incluidos (66,68,109,111,112,115–117,119,121,126,129–132). Con respecto al impacto de la carga de entrenamiento (TL) y la carga de competición (CL) en las respuestas hormonales, todos los estudios incluidos en esta revisión muestran alteraciones significativas en la testosterona, el cortisol y la relación testosterona/cortisol en respuesta a los cambios en la TL/CL externa e interna a lo largo de la temporada. Estas perturbaciones hormonales proporcionan información útil para el monitoreo de los atletas con el fin de detectar respuestas

fisiológicas disfuncionales. Enfatizando la importancia práctica de estos hallazgos, la relación T/C ha emergido como un marcador particularmente sensible para medir el estrés del entrenamiento y los niveles de fatiga. Un estudio realizado en jugadores de rugby indicó que solo los niveles de cortisol presentan limitaciones como biomarcador de estrés fisiológico debido a su variabilidad, lo que indica que la combinación con los valores de testosterona proporciona un índice más fiable (121) . De esta manera, Schelling et al. (111) obtuvieron que el estado hormonal varía según la posición de juego y el tiempo de juego, lo que impacta las estrategias de entrenamiento y recuperación. La diversidad en los hallazgos, como se recopiló en una revisión sistemática reciente de Moreno-Villanueva et al. (72), corrobora hipótesis anteriores sobre la variabilidad de los valores de los marcadores T, C y T/C (67,110,111,121). Esta variabilidad depende del período analizado y de la disciplina deportiva específica. Si bien algunos investigadores abogan por el uso de T y C como indicadores individuales de fatiga en deportes de equipo (67), la complejidad inherente a la respuesta hormonal requiere una investigación más amplia sobre la interacción entre estas hormonas, particularmente a través de la lente de la relación T/C. Este enfoque permite una interpretación matizada y completa de los datos, arrojando luz sobre el equilibrio entre los procesos anabólicos y catabólicos. Sin embargo, es crucial reconocer que estos parámetros hormonales no deben aislarse en su interpretación. Esta observación facilita la calibración precisa de los regímenes de entrenamiento mediante la utilización de datos de biomarcadores hormonales, con el objetivo de lograr una mejora óptima del rendimiento. Por lo tanto, es necesario ajustar adecuadamente el entrenamiento y la recuperación.

1.2. Marcadores de Daño Muscular

Una investigación sustancial evidencia el patrón de elevación constante de CK después del ejercicio que induce fatiga y daño muscular (71,135–137). Nuestra revisión corrobora esto, indicando elevaciones sostenidas notables en los niveles de CK (65–68,112,115,118,123,129). Sin embargo, varios aspectos merecen consideración en la interpretación de nuestros datos. Principalmente, estudios previos han revelado fluctuaciones considerables día a día en los niveles de CK (112,115,123,129). Estos hallazgos son respaldados además por otros estudios (69,139) que también observaron un cambio aproximado de alrededor del 26-27%, respectivamente, con el cambio más pequeño que vale la pena (SWC) en CK identificado en 8.6% (139). Idealmente, el cambio más pequeño que vale la pena (SWC) debería ser menor que el coeficiente de variación para una sensibilidad efectiva. Sin embargo, según los resultados de los estudios indexados (112,115,123,129), los aumentos post-partido fueron significativamente mayores ($p < 0,05$) que los coeficientes de variación de los atletas, con un aumento significativo ($p < 0,05$) en los niveles de CK en comparación con el nivel basal promedio a las 24, 48 y 72 h. Por lo tanto, parece que el uso de la CK como indicador de daño muscular es una herramienta sensible para detectar la carga aguda soportada por los atletas (69,112,115,123,129,139).

Aunque es innegable que los niveles de CK aumentan después del ejercicio intenso, su efectividad como medida para monitorear la carga crónica de un atleta parece ser menos confinable (67). No obstante, el estudio reportado por Barcelos et al. (65) y Marin et al. (68) demuestra cómo la CK y la lactato deshidrogenasa (LDH) pueden ser una herramienta sensible para detectar cambios en los niveles de daño muscular durante la pretemporada y la temporada. Las discrepancias entre los resultados del estudio se pueden explicar por varios factores (65,67,68): es importante notar cuánto tiempo

transcurrido desde el último entrenamiento o partido para las mediciones de CK porque si las mediciones se toman dentro de las primeras 78 h, los niveles de CK después de un partido o entrenamiento intenso serán significativamente más altos que el valor inicial. Sin embargo, después de estas 78 h, los niveles de CK son menos efectivos para detectar daño muscular como lo muestra el estudio de Birdsey et al. (129), registrándose los niveles más altos de CK en sangre entre las 24 y las 48 h posteriores a una sesión de entrenamiento o un partido en atletas élite(112,115,123,129). Otra consideración es la fluctuación circadiana de la CK; en condiciones de reposo típicas, las concentraciones de CK alcanzan su punto máximo por la mañana (140), lo que puede influir en el momento de la medición. En nuestra revisión, los tiempos de muestreo variaron enormemente; sin embargo, es probable que los aumentos sustanciales de CK después del entrenamiento o los partidos (24-72 h) eclipsen esta variación(112,115,123,129). Finalmente, es importante destacar en qué punto de la temporada se tomaron las muestras de CK y LDH. Si bien el estudio informado por Miloski et al. (67) no mostró diferencias significativas en la CK en sangre durante la temporada, sí reveló cambios significativos ($p < 0,05$) en la CK (266 μL) durante la pretemporada, cuando la carga de entrenamiento fue mayor. Resultados similares se mostraron en los estudios de Barcelos et al. (65) y Marin et al. (68), donde se encontraron diferencias significativas en CK y LDH cuando hubo una reducción significativa en la carga de entrenamiento como estrategia para mejorar el rendimiento del equipo (65) y durante períodos de congestión e intensidad de partidos como la temporada de playoffs (66,68,115,118,129).

En este contexto, la CK parece ser un marcador sensible para detectar daño muscular en atletas elite. Es esencial considerar que los niveles de CK experimentan fluctuaciones circadianas, generalmente siendo más altos por la mañana. Esto debe tenerse en cuenta al evaluar los niveles de CK para obtener resultados precisos. Además, esta enzima muestra mayor sensibilidad 72 h

después del entrenamiento o la competición, alcanzando su pico entre 24 y 48 h después de la actividad física intensa (112,115,123,129). Por lo tanto, medir los niveles de CK durante estos períodos puede proporcionar información valiosa sobre el estado muscular de un atleta. Además, la CK y la LDH pueden ser un indicador útil para monitorear las variaciones en el estado físico durante la temporada, especialmente durante períodos de partidos congestionados o una disminución en la carga de entrenamiento y/o partido. Esta herramienta permite a los entrenadores y atletas ajustar sus programas de entrenamiento y recuperación de manera más efectiva, minimizando el riesgo de lesiones y optimizando el rendimiento.

1.3. Marcadores inmunológicos

La SIgA ha emergido como un biomarcador fundamental para evaluar el sobreentrenamiento, el estrés psicológico y el estado de salud del tracto respiratorio superior, como se destaca en una investigación seminal (84). La SIgA funciona predominantemente como una barrera contra infecciones virales, obstruyendo la adherencia de patógenos al epitelio mucoso del tracto respiratorio superior, un mecanismo bien documentado en el trabajo de Rico-González et al.(84). En particular, una escalada en la intensidad del entrenamiento puede precipitar una disminución en los niveles de SIgA, aumentando la vulnerabilidad a las infecciones del tracto respiratorio superior (ITRS), como se aclara en varios estudios (82). Esta revisión sistemática examina ocho estudios que investigaron las respuestas de SIgA al entrenamiento estructurado y los compromisos competitivos. Estos estudios profundizan en la dinámica de la SIgA y otros marcadores inmunológicos (lisozima salivar, neopterina y neopterina total) en distintas modalidades de entrenamiento, que abarcan periodización, sobrecarga, reducción gradual y fases preparatorias (83,119,122,124,125,127,128,130).

Un subconjunto de la literatura revisada estableció correlaciones entre las concentraciones de SIgA y la prevalencia de URTI (83,127,128). Moreira et al. (83) llevaron a cabo un análisis matizado durante un período de entrenamiento intensivo de cuatro semanas, planteando la hipótesis y confirmando una correlación negativa entre las cargas de entrenamiento intensificadas y los niveles de SIgA, con un aumento concomitante en los síntomas de URTI, particularmente pronunciado en la última semana. Este hallazgo destaca la susceptibilidad de los atletas con SIgA reducida a los riesgos de URTI. Complementariamente, otro estudio identificó una baja tasa de secreción de SIgA como un factor de riesgo para URTI (141), al tiempo que también señaló la contribución de la mayor carga e intensidad del entrenamiento a la incidencia de URTI (141,142). Corroborando aún más esto, el estudio de Tiernan et al. (128) demostró que una reducción de $\geq 65\%$ en los niveles de SIgA aumentó significativamente el riesgo de URTI en las dos semanas siguientes. Por otro lado, otro estudio (127) no reportó correlaciones sustanciales entre los niveles absolutos de SIgA o lisozima salival (s-Lys) y la incidencia de infecciones de las vías respiratorias superiores. Sin embargo, se observó una tendencia a concentraciones más bajas de SIgA en jugadores con mayor incidencia de infecciones de las vías respiratorias superiores en comparación con jugadores asintomáticos, lo que indica una posible asociación entre niveles bajos de SIgA y un mayor riesgo de infecciones de las vías respiratorias superiores. Cabe destacar que el estudio también reveló variaciones específicas de la posición en los niveles de SIgA y s-Lys, y en la incidencia de infecciones de las vías respiratorias superiores, lo que subraya la importancia de mantener niveles óptimos de SIgA para mitigar el riesgo de infecciones de las vías respiratorias superiores.

Otro resultado destacado de esta revisión sistemática es la asociación entre el aumento de las cargas de entrenamiento y la disminución de los niveles de SIgA. Como propusieron Bottonis y Toubekis (130), evaluar las

concentraciones de SIgA puede ser fundamental para identificar cargas de trabajo de entrenamiento excesivas y determinar el riesgo de URTI entre atletas elite. La investigación de Tiernan et al. (128) tuvo como objetivo explorar la relación entre los niveles de SIgA y la carga de entrenamiento, planteando la hipótesis de una relación inversa. Aunque no se encontraron asociaciones significativas ($p < 0,005$), el estudio observó un aumento marcado en la carga de entrenamiento que precedió a la disminución de los niveles de SIgA, lo que sugiere que el manejo adecuado de la carga de entrenamiento y la recuperación suficiente podrían mitigar la disminución de SIgA [83]. Lindsay et al. (122) también encontraron una correlación entre las tasas de secreción de SIgA, neopterina y neopterina total y el “Player Load”. Estos hallazgos, junto con otros estudios incluidos en esta revisión, indican que las reducciones en la SIgA se asocian con un aumento de la intensidad/volumen del entrenamiento y con horarios congestionados (119,124,125). La monitorización longitudinal de las cargas de entrenamiento/partido y de la función inmunitaria de la mucosa durante las fases iniciales de recuperación puede mejorar significativamente la preparación del atleta y las estrategias de gestión del bienestar. Por lo tanto, la supresión crónica de la inmunidad de la mucosa salival puede servir como indicador de los ajustes necesarios en la carga de trabajo para fomentar el bienestar del atleta.

1.4. Marcadores inflamatorios y de estrés oxidativo

La evidencia científica acumulada indica que los periodos de alta demanda de partidos, junto con una recuperación limitada, resultan en fatiga acumulada y un aumento del estrés fisiológico. Esto se refleja en perturbaciones no resueltas en los biomarcadores de inflamación y estrés oxidativo a lo largo de competiciones sucesivas (65,110,111,115,118–120,128). Por ejemplo, un estudio con futbolistas élite informó los mayores

aumentos en citocinas inflamatorias como TNF α e IL-6, junto con marcadores de daño muscular como CK y LDH, en comparación con otros deportes durante una temporada regular (112). De igual manera, partidos de fútbol consecutivos durante una semana resultaron en niveles continuamente elevados de PCR, CK, cortisol y marcadores de estrés oxidativo, que mostraron aumentos más pronunciados después del segundo partido, lo que indica un mayor estrés fisiológico y fatiga debido a la recuperación limitada entre partidos (115). Esta tendencia a la inflamación no sostenida resultante de períodos de recuperación insuficientes entre partidos también es corroborada por otros estudios de fútbol (68,118). El baloncesto de élite durante una temporada de 6 meses (113) y el balonmano élite durante un período de 12 semanas (120) también mostraron aumentos en el estrés oxidativo (p. ej., $\uparrow$ GSSG, $\downarrow$ relación GSH/GSSG en un 18-35%) durante las fases intensivas, junto con perturbaciones leves en la inflamación. Se observaron mayores perturbaciones en el daño muscular (CK) y el estrés oxidativo (TBARS) en deportes con cargas excéntricas más altas, como el balonmano y el baloncesto, en comparación con el voleibol (112). Esto destaca las variadas demandas bioquímicas entre deportes. No obstante, los viajes y la competición continuos sin una resolución completa de la inflamación y la oxidación-reducción pueden aumentar el riesgo de lesiones (65,68,118).

Específicamente, la oxidación incesante puede afectar la contractilidad muscular y dañar las membranas celulares (119). Además, la inflamación persistente puede exacerbar el daño muscular y ralentizar la regeneración entre partidos (84). Como ejemplo, los niveles elevados de PCR después del partido se correlacionaron significativamente con aumentos en los niveles de creatina quinasa 24 h después en jugadores de fútbol de élite (118). Esto ilustra la interacción mecanicista entre la inflamación y el daño muscular secundario. En consecuencia, la monitorización bioquímica continua es vital para equilibrar el estrés y la recuperación, especialmente para deportes que implican esfuerzos recurrentes de alta intensidad como el fútbol, el baloncesto y el balonmano en

calendarios de partidos congestionados (115,120). Las extracciones de sangre regulares pueden permitir ajustes de la carga de entrenamiento para calibrar las cargas externas e internas [2]. Esto ayuda a estimular adaptaciones fisiológicas específicas al tiempo que mitiga el riesgo de enfermedad, sobreentrenamiento y lesiones durante las fases intensivas de la temporada, especialmente en condiciones de congestión de partidos (130,143).

1.5. Diferencias de sexo en la monitorización de la fatiga crónica

Si bien esta revisión se centró en atletas élitemasculinos, es importante reconocer que las diferencias de sexo desempeñan un papel significativo en el desarrollo, la manifestación y la monitorización de la fatiga crónica. Estas diferencias se derivan de variaciones fisiológicas, hormonales y metabólicas entre hombres y mujeres, que pueden afectar las respuestas e interpretación de los biomarcadores (144,145).

Una de las principales consideraciones en las atletas femeninas es la influencia del ciclo menstrual en la fatiga y los procesos de recuperación. Las fluctuaciones hormonales a lo largo del ciclo menstrual pueden afectar el rendimiento físico, la utilización de sustratos y la capacidad de recuperación (146). Por ejemplo, se ha demostrado que el estrógeno tiene un efecto protector contra el daño muscular inducido por el ejercicio, lo que podría provocar diferentes respuestas de la creatina quinasa en mujeres en comparación con hombres (147). La testosterona, un biomarcador clave en nuestra revisión, presenta niveles basales significativamente diferentes y cambios inducidos por el ejercicio entre sexos. Si bien tanto hombres como mujeres muestran aumentos agudos de testosterona después del ejercicio intenso, la magnitud del cambio suele ser mayor en los hombres (111). Esta diferencia requiere rangos de referencia específicos para cada sexo y potencialmente diferentes

interpretaciones de la relación testosterona/cortisol como un marcador del equilibrio anabólico/catabólico (68,111).

Las respuestas inflamatorias al ejercicio también muestran dimorfismo sexual. Algunos estudios han reportado que las mujeres presentan un patrón diferente de respuesta inflamatoria después del ejercicio, con patrones de liberación de citocinas potencialmente distintos a los de los hombres (148). Esto podría afectar la interpretación de marcadores inflamatorios como IL-6 y TNF- α en el contexto del monitoreo de la fatiga crónica. Las respuestas al estrés oxidativo al ejercicio también pueden diferir entre sexos, y algunas investigaciones sugieren que las mujeres pueden tener respuestas antioxidantes diferentes a las de los hombres (119). Esto podría influir en la interpretación de los marcadores de estrés oxidativo en los protocolos de monitoreo de la fatiga. Además, las diferencias en la composición y el metabolismo de las fibras musculares entre hombres y mujeres (149) pueden afectar la acumulación de fatiga y el tiempo de recuperación, lo que podría requerir diferentes estrategias de monitoreo e interpretaciones de los datos de biomarcadores.

Estas diferencias basadas en el sexo resaltan la necesidad de una cuidadosa consideración al aplicar protocolos de monitoreo de la fatiga desarrollados principalmente en poblaciones masculinas a atletas femeninas. Es necesario establecer rangos de referencia específicos para cada sexo para los biomarcadores clave de la fatiga e investigar si se necesitan diferentes estrategias de monitoreo para atletas masculinos y femeninos en deportes de equipo (144,145).

2. DISCUSIÓN ESTUDIO II

Este estudio examinó los cambios en la proteína total, SIgA, TAC, TOS y el índice de estrés oxidativo y sus relaciones con las cargas de entrenamiento durante un período congestionado de partido y programa de entrenamiento en jugadores de fútbol de élite, realizado en la temporada precompetitiva. Los principales hallazgos fueron (a) un aumento significativo en la proteína total, SIgA y TAC se observó en la carga aguda (antes vs. después de la sesión) en contextos de entrenamiento y partido, específicamente, la proteína total y SIgA mostraron incrementos notables tanto en los entornos de entrenamiento como de partido, mientras que el TAC exhibió aumentos significativos exclusivamente durante los partidos; (b) no se detectaron cambios en TOS ni en el índice de estrés oxidativo en la carga aguda durante los contextos de entrenamiento y partido; (c) se observó una tendencia positiva entre la carga crónica durante una semana congestionada de la temporada precompetitiva y la disminución de los niveles de proteína total y SIgA; y (d) se encontró una relación positiva entre las cargas de entrenamiento internas y las respuestas oxidativas/antioxidantes, expresada por un índice de estrés oxidativo sin diferencias significativas (valor $p > 0,05$) en cargas agudas y crónicas durante un programa de entrenamiento y partido congestionado.

2.1. Carga Aguda

Con respecto a los cambios relativos en SIgA en la carga aguda, estudios previos que involucraron a atletas de élite dentro de sus regímenes de entrenamiento regulares o entornos competitivos han demostrado que el ejercicio de resistencia intenso generalmente conduce a niveles reducidos de SIgA después del ejercicio (150). Este consenso está respaldado por numerosos estudios que ilustran disminuciones en los niveles de SIgA después

del esfuerzo físico intenso (151–156). Sin embargo, el presente estudio no encontró evidencia para apoyar la hipótesis de que un período congestionado de partidos y sesiones de entrenamiento durante la pretemporada de fútbol suprimiría transitoriamente la función inmune de las mucosas en jugadores de élite, según lo evaluado por los niveles de SIgA. Cabe destacar que los aumentos en SIgA, como se observó en los jugadores (ver Figura 1), se han reportado de manera similar en investigaciones previas (157–160). Estas discrepancias en la literatura científica pueden atribuirse a la variabilidad en la medición de SIgA empleada en los estudios para dilucidar los hallazgos. La relación entre SIgA y proteína total (relación SIgA/Pro) se ha investigado y analizado en artículos previos de investigación sobre inmunología del ejercicio. Tomasi et al. (161) informaron un mayor porcentaje de depleción de SIgA cuando esta variable se expresó en relación con la concentración de proteínas totales. Sin embargo, se ha sugerido que utilizar la relación entre SIgA y la concentración de proteína total puede dar lugar a interpretaciones erróneas, ya que el contenido proteico total de la saliva es considerablemente más variable debido a las altas concentraciones de enzimas como la amilasa, que se inducen mediante la estimulación del flujo sanguíneo. Podría ser más apropiado expresar la concentración de SIgA como una relación con la albúmina, ya que esta se ve menos influenciada por el flujo sanguíneo y no se secreta activamente a través de la membrana epitelial (158,162).

Con respecto a la proteína total, los resultados del presente estudio también muestran que hubo un aumento significativo en la proteína total del entrenamiento PRE ($1,49 \pm 0,79 \text{ mg/mL}^{-1}$) al POST ($2,25 \pm 1,40 \text{ mg/mL}^{-1}$) y del ajuste PRE ($1,31 \pm 0,77 \text{ mg/mL}^{-1}$) al POST ($1,81 \pm 1,22 \text{ mg/mL}^{-1}$). Estos hallazgos respaldan los resultados encontrados en otros estudios (158), que mostraron aumentos en las concentraciones de proteína total ($0,48 \pm 0,10 \text{ mg/mL}^{-1}$ a $1,80 \pm 0,38 \text{ mg/mL}^{-1}$). El papel de la proteína total en estudios inmunológicos y los cambios en los niveles de proteína bajo diferentes

condiciones fisiológicas aún son poco comprendidos. Estas limitaciones son extensas para la mayoría de las funciones de la proteína salival (95). Además, entre partidos y entrenamientos, durante las cargas agudas, la proteína total parece ser una variable menos sensible para determinar el efecto agudo en jugadores de élite de fútbol en comparación con la SIgA; estos cambios parecen deberse en gran medida a la estimulación de la secreción de amilasa por el aumento de la actividad nerviosa simpática, que parece tener un mayor efecto en los niveles de SIgA (163).

En cuanto a los cambios relativos en TOS, TAC e índice de estrés oxidativo en condiciones de carga aguda, el presente estudio no observó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en todas las variables, excepto en el TAC. Esta discrepancia podría atribuirse a un coeficiente de variación intrasujeto (33,45%). Las respuestas oxidativas a la carga de trabajo son inherentes a los procesos fisiológicos del cuerpo. Sin embargo, para determinar la tolerancia a la carga oxidativa del cuerpo, es imperativo examinar su respuesta antioxidante. Por lo tanto, la relación TOS/TAC sirve como indicador del índice de estrés oxidativo. Además, como se muestra en la Tabla 2, las cargas relacionadas con el partido provocan un aumento significativo en las variables TOS y TAC (valor $p < 0,02$ y valor $p < 0,01$, respectivamente) en comparación con las sesiones de entrenamiento. No obstante, no se observan diferencias en el índice de estrés oxidativo, lo que sugiere que el mecanismo de defensa antioxidante contrarresta adecuadamente las demandas oxidativas. Estos hallazgos implican que los sujetos de este estudio no presentaron estrés oxidativo en respuesta a cargas agudas durante el intenso programa de partidos y entrenamiento.

2.2. Carga Crónica

En cuanto a la carga crónica, se analizó una semana con alta concentración de la pretemporada para observar si se observaban cambios significativos en las variables proteína total, SIgA, TAC, TOS e índice de estrés oxidativo en tres momentos (véase la Figura 2) en comparación con los niveles de PRE. Los resultados no mostraron diferencias significativas en ninguna de las variables evaluadas, más allá de los resultados mostrados en la carga aguda mencionada anteriormente. Sin embargo, parece existir una tendencia positiva entre la carga crónica durante una semana con alta concentración de la pretemporada y la disminución de los niveles de proteína total y SIgA, y se encontró una relación positiva entre las cargas internas de entrenamiento y las respuestas oxidativas/antioxidantes. Los niveles de proteína total y SIgA no mostraron valores significativamente alterados a las 48 h ni a las 120 h, lo que indica que los sujetos incluidos en este estudio no muestran riesgo de contraer infecciones del tracto respiratorio superior (ITRS) debido a una reacción inmune disminuida, como se muestra en otros estudios (164–167) donde se encontró una depleción significativa de SIgA con la progresión de las cargas de trabajo soportadas por los atletas. Los hallazgos pueden deberse a la gran variabilidad interindividual de las variables (proteína total y SIgA), así como al pequeño tamaño muestral. Adicionalmente, el momento de medición de las variables mencionadas parece ser un factor determinante para su determinación; la mayoría de los artículos que han analizado esta variable muestran tiempos de medición altamente heterogéneos (151–161), lo que dificulta determinar el momento más adecuado para medir esta variable, como podemos encontrar en otras variables como el lactato, del cual sabemos que su momento óptimo de medición está alrededor de los 3–5 min después de la actividad (168). Los valores de TAC, TOS y el índice de estrés oxidativo se mantuvieron sin cambios (véase la Figura 2), lo que indica que la carga crónica soportada por los atletas

de élite de fútbol durante la semana evaluada en la pretemporada no mostró signos de estrés oxidativo. Las variables TOS y TAC se comportaron de forma similar, lo que resultó en un índice de estrés oxidativo sin cambios. Las cargas inducidas en estos atletas durante este período fueron asimiladas óptimamente a nivel oxidativo por todos los jugadores de élite, sin mostrar signos de un índice de estrés oxidativo elevado.

Los presentes hallazgos indican que, tras un período intenso de partidos y entrenamientos durante la pretemporada competitiva en jugadores de élite de fútbol, las variables proteína total y SIgA han demostrado ser sensibles para detectar cambios fisiológicos en atletas sometidos a carga aguda. Además, la SIgA resulta ser una variable más sensible que la proteína total para distinguir entre entrenamiento y partidos, lo que se explica en parte por la influencia de la actividad del sistema nervioso simpático. Este estudio sugiere que la carga crónica no parece disminuir los niveles de SIgA. Sin embargo, esto no implica que la SIgA deba descartarse como un posible mecanismo que podría aumentar la susceptibilidad de los atletas a la infección, especialmente durante períodos de sobreentrenamiento. Además, dada la naturaleza de los deportes de equipo y sus exigencias específicas en comparación con los ejercicios de resistencia, debe considerarse la probabilidad de efectos diferentes. En cuanto al índice de estrés oxidativo, los jugadores no mostraron signos de estrés oxidativo bajo cargas agudas ni crónicas, lo que indica una asimilación óptima de la carga durante partidos y entrenamientos intensos.

3. DISCUSIÓN ESTUDIO III

3.1. Variables de carga externa que explican en mayor medida el “Player Load”

Entre las variables extrínsecas analizadas, las relacionadas con la velocidad y la aceleración mostraron la mayor influencia en el “Player Load”. En particular, la variable [15-18] km/h (m) se destacó como el predictor más significativo del esfuerzo físico, con un coeficiente de correlación de 0,83 ($p < 0,05$). Esto sugiere que los metros recorridos entre 15 y 18 km/h por jugadores élite de fútbol sala son un fuerte predictor de la carga total del jugador durante la sesión. Este hallazgo es consistente con estudios previos que sugieren que los metros recorridos a alta velocidad durante actividades de alta intensidad están estrechamente relacionados con las demandas fisiológicas y el nivel de esfuerzo que los jugadores deben soportar (169). Además, las aceleraciones y desaceleraciones también mostraron un impacto considerable, con correlaciones de 0,67 y 0,60 respectivamente ($p < 0,05$). Este hallazgo concuerda con la literatura existente, que indica que las aceleraciones y desaceleraciones rápidas son indicadores clave de la intensidad del trabajo físico, ya que requieren una mayor activación muscular y, en consecuencia, un mayor consumo energético (170). Cabe destacar que, si bien variables como el tiempo también mostraron una asociación con el “Player Load” ($r = 0,53$, $p < 0,05$), su efecto fue menos pronunciado en comparación con las variables de velocidad y aceleración/desaceleración. Esto podría deberse a que estas últimas son más sensibles a la variabilidad de la intensidad y pueden capturar fluctuaciones en el esfuerzo físico a lo largo de la actividad (171).

En cuanto a los modelos de regresión lineal, se observó que las variables [15-18] km/h (m) y aceleraciones tienen un impacto significativo en la predicción de el “Player Load”. Este modelo es capaz de explicar el 84,9 % de la varianza

(R cuadrado múltiple: 0,849), lo que indica un excelente poder explicativo. Adicionalmente, se identificaron tres variables con mayor peso en el modelo: [15-18] km/h (m), deceleraciones y aceleraciones. El modelo muestra una buena capacidad predictiva, con un error cuadrático medio (RMSE) de 7,296, lo que indica una precisión aceptable. La validación cruzada de 10 veces reveló un RMSE de 9,23, un R^2 de 0,78 y un error absoluto medio (MAE) de 7,33, lo que refuerza la validez del modelo para predecir la Carga de Jugadores, aunque con cierto margen de mejora. Por otro lado, los modelos Random Forest y Gradient Boosting mostraron un rendimiento adecuado, con Random Forest explicando el 74,88% de la varianza. Sin embargo, el alto error cuadrático medio (MSE) de 80,28 sugiere que este modelo podría mejorarse. A pesar de esto, Random Forest identificó la variable [15-18] km/h (m) como la que mayor influencia tiene en el “Player Load”, seguida de las desaceleraciones, aceleraciones e impactos de alta intensidad. Se encontró un patrón similar en el modelo de Impulso de Gradiente, que también destacó las mismas variables como las más relevantes para explicar el “Player Load”.

En conclusión, los modelos de regresión lineal demostraron una alta capacidad predictiva para el “Player Load”, explicando el 84,9% de la varianza y destacando cuatro variables clave. Si bien los modelos Random Forest y de Impulso de Gradiente también mostraron un rendimiento adecuado, el primero identificó las variables más influyentes con margen de mejora en su precisión. Estos hallazgos subrayan la importancia de las variables [15-18] km/h (m), aceleraciones y desaceleraciones para predecir el “Player Load” en jugadores élite de fútbol durante un período congestionado.

3.2 Variables de carga interna que más explican el “Player Load”

Los resultados obtenidos del análisis de variables intrínsecas, como proteína T_pre, TAC_pre, SIgA_pre, FC máx. y FC mín., revelan una baja

correlación con el “Player Load”. Este hallazgo se refleja en la incapacidad del procedimiento de regresión para encontrar un modelo significativo (R cuadrado ajustado: 0,01046, estadístico F: 1,071, valor p: 0,3972). La baja correlación sugiere que estas variables intrínsecas no son buenos predictores de el “Player Load” en el contexto analizado. La literatura existente respalda estos resultados, indicando que las variables fisiológicas y bioquímicas, como las proteínas totales y los niveles de SIgA, podrían no tener una relación directa y significativa con las cargas de entrenamiento medidas a través del “Player Load”. Por ejemplo, estudios previos han demostrado que, si bien las proteínas totales son importantes para la recuperación y el rendimiento muscular, su variabilidad individual y la respuesta a diferentes tipos de entrenamiento pueden limitar su capacidad predictiva en modelos de regresión lineal (172).

En el caso del modelo Random Forest, aunque se observó variabilidad en los resultados, las proteínas totales se identificaron como la variable más relevante y significativa ($P < 0,05$). Esto coincide con la investigación que destaca la importancia de las proteínas totales en la adaptación al entrenamiento y la recuperación muscular (173). Sin embargo, la alta variabilidad en los resultados sugiere que otros factores, posiblemente no medidos en este estudio, podrían estar influyendo en el “Player Load”. Además, la literatura sugiere que el “Player Load”, una métrica derivada de los datos de aceleración, podría estar más estrechamente relacionada con las variables mecánicas y de movimiento que con las variables fisiológicas intrínsecas (174). Esto podría explicar la baja correlación observada en este estudio.

3.3. Influencia de la Proteína Total y su relación con las variables de carga externa

Análisis posteriores de las tres principales variables de carga externa que explican la varianza en el “Player Load” (metros recorridos entre 15 y 18 km/h,

desaceleraciones y aceleraciones) revelan diferencias significativas en la reacción de cada jugador en comparación con los niveles de proteína total. Este hallazgo subraya la importancia de considerar las respuestas individuales al analizar cómo cada variable extrínseca afecta el “Player Load”. La comparación de las variables de carga externa con los niveles de proteína total muestra que cada jugador reacciona de forma diferente. Por ejemplo, algunos jugadores pueden mostrar mayor sensibilidad a las aceleraciones y desaceleraciones, mientras que otros pueden verse más afectados por los metros recorridos a alta velocidad. Esta variabilidad individual es crucial para un análisis más exhaustivo y personalizado de el “Player Load”.

La literatura existente respalda la idea de que las respuestas individuales a las cargas de entrenamiento pueden variar significativamente debido a factores como la condición física, la nutrición, el estado psicológico y la genética. Los entrenadores y preparadores físicos deben considerar estas diferencias individuales al diseñar programas de entrenamiento personalizados. Por ejemplo, un estudio realizado por Impellizzeri et al. (2020) (175) destaca que la variabilidad en las respuestas individuales a las cargas de entrenamiento puede influir en la eficacia de los programas de entrenamiento y la prevención de lesiones.

Los entrenadores y preparadores físicos pueden utilizar esta información para tomar decisiones más informadas sobre qué variables de carga externa tienen mayor peso o efecto en la carga total que recibe cada jugador. Por ejemplo, si se identifica que un jugador presenta alta sensibilidad a las aceleraciones, las sesiones de entrenamiento pueden ajustarse para optimizar el rendimiento y minimizar el riesgo de lesiones. Además, la monitorización continua de estas variables permite a los entrenadores adaptar las cargas de entrenamiento en tiempo real, garantizando que cada jugador reciba una carga adecuada y personalizada. Esto no solo mejora el rendimiento individual, sino que también contribuye a la cohesión del equipo y al éxito general. La

personalización de las cargas de entrenamiento es esencial para maximizar el rendimiento y minimizar el riesgo de lesiones. Losada-Benítez y Barbero-Álvarez (2022) (176) destacan que la monitorización y el control de la carga física y técnica durante el microciclo competitivo son fundamentales para ajustar eficazmente las cargas de entrenamiento. Al considerar las diferencias individuales en la reacción a las variables de carga externa, los entrenadores pueden diseñar programas de entrenamiento que se adapten mejor a las necesidades específicas de cada jugador. La consideración de las diferencias individuales en la reacción a las variables de carga externa, junto con los niveles totales de proteína, proporciona una base sólida para un análisis más detallado y personalizado de el “Player Load”. Integrar estas variables en la planificación del entrenamiento puede mejorar significativamente la capacidad de los entrenadores para gestionar las cargas de trabajo y maximizar el rendimiento de los jugadores.

PARTE V.

**CONCLUSIONES Y APLICACIONES
PRÁCTICAS**

ESTUDIO I

Esta revisión sistemática ofrece una síntesis exhaustiva de la literatura científica sobre la monitorización bioquímica de la fatiga en atletas élite masculinos. La evidencia demuestra de forma concluyente que las elevadas cargas fisiológicas impuestas por el entrenamiento intensivo y la congestión de los partidos provocan alteraciones significativas en todos los biomarcadores evaluados. Estos indican daño muscular medible, estrés oxidativo, inflamación, inmunosupresión y estrés hormonal. Además, los cambios son consistentemente mayores después de los partidos oficiales en comparación con el entrenamiento regular en todos los deportes. La cinética de recuperación reportada varía ampliamente, desde 24 horas hasta varios días después del ejercicio, según el contexto.

En general, esta revisión destaca la utilidad del monitoreo bioquímico frecuente para cuantificar los aspectos bioquímicos de la fatiga junto con las evaluaciones del rendimiento deportivo en atletas de alto nivel. Esto permite a los entrenadores calibrar el estímulo del entrenamiento y la recuperación para estimular una adaptación óptima a nivel individual, al tiempo que se mitigan los riesgos de lesiones, enfermedades y sobreentrenamiento. Una idea clave es la necesidad crucial de estrategias de monitoreo holísticas que abarquen indicadores tanto fisiológicos como perceptuales de la fatiga y el estado adaptativo. Esto permite ajustar las cargas externas e internas para aumentar el rendimiento a lo largo de una temporada. La investigación futura debe abordar el impacto de los estresores psicológicos junto con las métricas de carga física para obtener una perspectiva más completa, particularmente sobre la inflación de los niveles basales de biomarcadores como un error técnico adicional. No obstante, esta revisión vuelve a enfatizar la evaluación de biomarcadores como una herramienta invaluable para la gestión de la carga de

entrenamiento y la optimización del rendimiento en programas deportivos de alto rendimiento.

ESTUDIO II

Los datos presentados indican que la monitorización del proceso de entrenamiento puede ayudar a entrenadores y científicos a comprender las respuestas inmunitarias y oxidativas al entrenamiento. De hecho, este estudio reveló que la SIgA y la proteína total pueden servir como valiosos marcadores de la intensidad del partido en jugadores de fútbol sala de élite durante periodos de entrenamiento intensivo. Además, podrían utilizarse para mitigar el riesgo de infecciones de las vías respiratorias superiores (ITRS) durante la fase de temporada, con la monitorización de la SIgA como análisis rutinario. Sin embargo, la variabilidad en las respuestas entre jugadores sugiere la necesidad de un análisis individual de los resultados en deportes de equipo. Asimismo, la evaluación de las respuestas oxidativas y antioxidantes mediante el índice de estrés oxidativo puede ayudar a entrenadores y preparadores físicos a determinar si los atletas presentan un balance negativo en dicho índice y, en consecuencia, a ajustar o adaptar las cargas de entrenamiento o las estrategias nutricionales en consecuencia. De hecho, una monitorización y un control meticulosos del entrenamiento utilizando estas herramientas prácticas pueden mejorar la salud de los atletas y su disponibilidad para la selección. Se necesita más investigación sobre el papel de los cambios agudos post-ejercicio en la expresión de SIgA en jugadores de fútbol élite de élite.

ESTUDIO III

Este estudio destaca la importancia de las variables de carga externa, particularmente aquellas relacionadas con la velocidad y la aceleración, para

predecir la carga de trabajo del jugador durante el entrenamiento élite de fútbol. Los resultados muestran que la distancia recorrida por los jugadores a velocidades entre 15 y 18 km/h, junto con las fluctuaciones de aceleración y desaceleración, son vitales para medir su intensidad de trabajo. Los modelos de regresión lineal tuvieron un excelente desempeño, explicando el 84,9% de la varianza. Identificaron la carrera a alta velocidad, la aceleración y la desaceleración como los principales factores que afectan la carga de trabajo del jugador. Por otro lado, si bien los modelos Random Forest y Gradient Impulse tuvieron un buen desempeño, aún hay margen de mejora en su precisión. Por otro lado, al analizar las variables de carga intrínseca, como los niveles totales de proteína, la conexión con el “Player Load” fue bastante débil, lo que refuerza la idea de que los factores extrínsecos relacionados con el movimiento están más estrechamente vinculados al Player Load que los marcadores fisiológicos como la proteína total. La forma en que los jugadores reaccionan a diferentes factores de carga externa demuestra la importancia de personalizar las cargas de entrenamiento para cada individuo. Cuando los entrenadores realizan ajustes personalizados según la respuesta de cada jugador a estas presiones externas, pueden mejorar el rendimiento y reducir el riesgo de lesiones. Esto significa que los programas de entrenamiento no solo son más efectivos, sino también más eficientes. Adoptar este enfoque personalizado para gestionar las cargas de entrenamiento es crucial para sacar el máximo provecho de los jugadores y garantizar el éxito de todo el equipo.

PARTE VI.

**FUTURAS LÍNEAS DE
INVESTIGACIÓN**

ESTUDIO I

A partir de los hallazgos de esta revisión sistemática, futuras investigaciones deberían abordar las áreas con menor investigación sobre atletas femeninas y la ampliación a una gama más amplia de deportes. Los estudios longitudinales de seguimiento de las respuestas de los biomarcadores a lo largo de varias temporadas aportarían información valiosa sobre las adaptaciones a largo plazo. También se necesitan más estudios que examinen las interacciones entre varios biomarcadores simultáneamente, así como nuevos biomarcadores potencialmente más sensibles. Los estudios futuros deberían tener como objetivo establecer rangos de referencia específicos para cada deporte y posición para los biomarcadores clave con el fin de mejorar la interpretación. Por último, la investigación que integre los datos de los biomarcadores con otras herramientas de seguimiento como las métricas GPS, las medidas subjetivas de bienestar y los indicadores de rendimiento proporcionaría una comprensión más completa de la fatiga del atleta y los procesos de recuperación. Estos enfoques holísticos podrían conducir a estrategias de gestión de la carga más individualizadas y eficaces en los deportes de equipo de élite.

ESTUDIO II

Los resultados sobre el uso de la inmunoglobulina A salival y la proteína total como marcadores abren la puerta a nuevas investigaciones sobre la respuesta inmunitaria propia de cada jugador en relación con variables como el cronotipo, los antecedentes de infección y la carga acumulada. Sería aconsejable realizar ensayos experimentales de comparación de la eficacia de diferentes estrategias de recuperación (por ejemplo, ingestión de suplementos antioxidantes, baños de contraste o terapia de relajación) en la recuperación

postpartido de los niveles de SIgA. También sería pertinente explorar la dinámica de estos marcadores en función del microciclo -incluyendo cargas máximas, días de recuperación y partidos consecutivos- para determinar patrones persistentes de inmunosupresión. El empleo de tecnología portátil de análisis en tiempo real también posibilitaría y facilitaría la monitorización, dinámica e influenciada también por el jugador, que permitiría tomar decisiones médicas y de entrenamiento en deportes como el fútbol sala de alta exigencia.

ESTUDIO III

Debido a que las variables de carga externa determinan el rendimiento físico del jugador de fútbol sala, futuras investigaciones deben abordar la integración de estos datos cinemáticos con medidas de respuesta interna, es decir, α -Amilasa salival, marcadores de daño muscular como la CK, marcadores hormonales como el ratio T/C, con el fin de obtener una comprensión completa del esfuerzo fisiológico individual. Además, será necesario seguir trabajando en la aplicación de modelos predictivos más avanzados mediante inteligencia artificial y aprendizaje profundo que sean capaces de considerar múltiples factores contextuales como la duración del partido, la posición del jugador o la estrategia táctica empleada. Otra área de relevancia es si es factible individualizar las cargas no solo en función de la respuesta física, sino también en función de la susceptibilidad específica de la persona a las lesiones, la fatiga neuromuscular y la recuperación mental. Este tipo de individualización basada en datos tiene el potencial de transformar la planificación diaria del entrenamiento, y será más precisa, eficiente y orientada al rendimiento sostenible a largo plazo del deportista durante toda la temporada.

Bibliografía

1. Hawley J, Burke L. Rendimiento deportivo máximo: estrategias para el entrenamiento y la nutrición en el deporte [Internet]. Editorial Paidotribo; 2000 [citado 1 de julio de 2024].
2. Rodríguez DR, Tous Fajardo J. Prevención de lesiones en el deporte: Claves para un rendimiento deportivo óptimo [Internet]. Ed. Médica Panamericana; 2011 [citado 1 de julio de 2024].
3. Seirul-lo Vargas F. El entrenamiento en los deportes de equipo. Mastercede; 2017.
4. Cunniffe B, Hore AJ, Whitcombe DM, Jones KP, Baker JS, Davies B. Time course of changes in immunoendocrine markers following an international rugby game. *Eur J Appl Physiol*. enero de 2010;108(1):113-22.
5. McLellan CP, Lovell DI, Gass GC. Markers of postmatch fatigue in professional Rugby League players. *J Strength Cond Res*. abril de 2011;25(4):1030-9.
6. Peñas CL, Acero RM, Lalin Novoa C, Seirul-lo Vargas F. Causas objetivas de planificación en deportes de equipo (I): estado de forma y calendarios. *Revista de Entrenamiento Deportivo*. 2013;27(1):1-19.
7. Bourdon PC, Cardinale M, Murray A, Gustin P, Kellmann M, Varley MC, et al. Monitoring Athlete Training Loads: Consensus Statement. *Int J Sports Physiol Perform*. abril de 2017;12(Suppl 2):S2161-70.
8. Coutts AJ, Crowcroft S, Kempton T. Developing athlete monitoring systems: theoretical basis and practical applications. En: *Recovery and Well-being in Sport and Exercise* [Internet]. Routledge; 2021 [citado 14 de agosto de 2024]. p. 17-31.
9. McLaren SJ, Macpherson TW, Coutts AJ, Hurst C, Spears IR, Weston

M. The Relationships Between Internal and External Measures of Training Load and Intensity in Team Sports: A Meta-Analysis. *Sports Med.* marzo de 2018;48(3):641-58.

10. Fox JL, Stanton R, Sargent C, Wintour SA, Scanlan AT. The Association Between Training Load and Performance in Team Sports: A Systematic Review. *Sports Med.* diciembre de 2018;48(12):2743-74.

11. Halson SL. Monitoring training load to understand fatigue in athletes. *Sports Med.* noviembre de 2014;44 Suppl 2(Suppl 2):S139-147.

12. Impellizzeri FM, Marcora SM, Coutts AJ. Internal and External Training Load: 15 Years On. *Int J Sports Physiol Perform.* 1 de febrero de 2019;14(2):270-3.

13. Boyd LJ, Ball K, Aughey RJ. Quantifying external load in Australian football matches and training using accelerometers. *Int J Sports Physiol Perform.* enero de 2013;8(1):44-51.

14. Meeusen R, Duclos M, Foster C, Fry A, Gleeson M, Nieman D, et al. Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. *Med Sci Sports Exerc.* enero de 2013;45(1):186-205.

15. Hader K, Rumpf MC, Hertzog M, Kilduff LP, Girard O, Silva JR. Monitoring the Athlete Match Response: Can External Load Variables Predict Post-match Acute and Residual Fatigue in Soccer? A Systematic Review with Meta-analysis. *Sports Med Open.* 9 de diciembre de 2019;5(1):48.

16. Silva JR, Rumpf MC, Hertzog M, Castagna C, Farooq A, Girard O, et al. Acute and Residual Soccer Match-Related Fatigue: A Systematic Review and

Meta-analysis. Sports Med. marzo de 2018;48(3):539-83.

17. Ascensão A, Magalhães J, Oliveira J, Duarte JA, Soares J. Fisiologia da fadiga muscular. Delimitação conceptual, modelos de estudo e mecanismos de fadiga de origem central e periférica. 2003 [citado 31 de marzo de 2025]; Disponible en:

https://www.academia.edu/download/52588524/Fisiologia_da_fadiga_muscular._Delimitao20170411-16259-heygt.pdf

18. Bowen L, Gross AS, Gimpel M, Li FX. Accumulated workloads and the acute:chronic workload ratio relate to injury risk in éliteyouth football players. Br J Sports Med. marzo de 2017;51(5):452-9.

19. Fox JL, Scanlan AT, Stanton R. A Review of Player Monitoring Approaches in Basketball: Current Trends and Future Directions. J Strength Cond Res. julio de 2017;31(7):2021-9.

20. Gabbett TJ, Whyte DG, Hartwig TB, Wescombe H, Naughton GA. The relationship between workloads, physical performance, injury and illness in adolescent male football players. Sports Med. julio de 2014;44(7):989-1003.

21. Rico-González M, Los Arcos A, Nakamura FY, Moura FA, Pino-Ortega J. The use of technology and sampling frequency to measure variables of tactical positioning in team sports: a systematic review. Res Sports Med. 2020;28(2):279-92.

22. Alarifi A, Al-Salman A, Alsaleh M, Alnafessah A, Al-Hadhrami S, Al-Ammar MA, et al. Ultra Wideband Indoor Positioning Technologies: Analysis and Recent Advances. Sensors (Basel). 16 de mayo de 2016;16(5):E707.

23. Barros RML, Misuta MS, Menezes RP, Figueroa PJ, Moura FA, Cunha SA, et al. Analysis of the distances covered by first division brazilian soccer

players obtained with an automatic tracking method. *J Sports Sci Med*. 2007;6(2):233-42.

24. Barris S, Button C. A review of vision-based motion analysis in sport. *Sports Med*. 2008;38(12):1025-43.

25. D'Orazio T, Leo M. A review of vision-based systems for soccer video analysis. *Pattern recognition*. 2010;43(8):2911-26.

26. Larsson P. Global positioning system and sport-specific testing. *Sports Med*. 2003;33(15):1093-101.

27. Townshend AD, Worringham CJ, Stewart IB. Assessment of speed and position during human locomotion using nondifferential GPS. *Med Sci Sports Exerc*. enero de 2008;40(1):124-32.

28. Schutz Y, Herren R. Assessment of speed of human locomotion using a differential satellite global positioning system. *Med Sci Sports Exerc*. marzo de 2000;32(3):642-6.

29. Malone JJ, Lovell R, Varley MC, Coutts AJ. Unpacking the Black Box: Applications and Considerations for Using GPS Devices in Sport. *Int J Sports Physiol Perform*. abril de 2017;12(Suppl 2):S218-26.

30. Witte TH, Wilson AM. Accuracy of non-differential GPS for the determination of speed over ground. *J Biomech*. diciembre de 2004;37(12):1891-8.

31. Williams M, Morgan S. Horizontal positioning error derived from stationary GPS units: A function of time and proximity to building infrastructure. *International Journal of Performance Analysis in Sport*. agosto de 2009;9(2):275-80.

32. Beekhuizen J, Kromhout H, Huss A, Vermeulen R. Performance of GPS-devices for environmental exposure assessment. *J Expo Sci Environ Epidemiol*. 2013;23(5):498-505.
33. Akenhead R, Nassis GP. Training Load and Player Monitoring in High-Level Football: Current Practice and Perceptions. *Int J Sports Physiol Perform*. julio de 2016;11(5):587-93.
34. Alarifi A, Al-Salman A, Alsaleh M, Alnafessah A, Al-Hadhrami S, Al-Ammar MA, et al. Ultra Wideband Indoor Positioning Technologies: Analysis and Recent Advances. *Sensors (Basel)*. 16 de mayo de 2016;16(5):707.
35. Al-Ammar MA, Alhadhrami S, Al-Salman A, Alarifi A, Al-Khalifa HS, Alnafessah A, et al. Comparative survey of indoor positioning technologies, techniques, and algorithms. En: 2014 International Conference on Cyberworlds [Internet]. IEEE; 2014 [p. 245-52.
36. Shen G, Zetik R, Thoma RS. Performance comparison of TOA and TDOA based location estimation algorithms in LOS environment. En: 2008 5th workshop on positioning, navigation and communication [Internet]. IEEE; 2008 [citado 3 de abril de 2025]. p. 71-8.
37. Pino Ortega J, Bastida Castillo A, Gómez Carmona CD, Cruz Sánchez E de la, Reche Royo X, Ibáñez SJ. Accuracy and Inter-Unit Reliability of Ultra-Wide-Band Tracking System in Indoor Exercise. 2019 [citado 3 de abril de 2025];
38. Bastida-Castillo A, Gómez-Carmona CD, De La Cruz Sánchez E, Pino-Ortega J. Comparing accuracy between global positioning systems and ultra-wideband-based position tracking systems used for tactical analyses in soccer. *European Journal of Sport Science*. octubre de 2019;19(9):1157-65.

39. Chóliz J, Hernández-Solana Á, Valdovinos A. Strategies for optimizing latency and resource utilization in multiple target uwb-based tracking. En: 2011 IEEE Wireless Communications and Networking Conference [Internet]. IEEE; 2011 [citado 3 de abril de 2025]. p. 838-43.
40. Liu Y, Chen Q. Research on integration of indoor and outdoor positioning in professional athletic training. En: Proceedings [Internet]. MDPI; 2018 [citado 3 de abril de 2025]. p. 295.
41. Pelham TW, Robinson MG, Holt LE. Assessing human movement with accelerometry. *Work*. 2006;27(1):21-8.
42. Barnes CM, Clark CCT, Rees P, Stratton G, Summers HD. Objective profiling of varied human motion based on normative assessment of magnetometer time series data. *Physiol Meas*. 26 de abril de 2018;39(4):045007.
43. Passaro VMN, Cuccovillo A, Vaiani L, Carlo MD, Campanella CE. Gyroscope Technology and Applications: A Review in the Industrial Perspective. *Sensors (Basel)*. 7 de octubre de 2017;17(10):2284.
44. Chambers R, Gabbett TJ, Cole MH, Beard A. The Use of Wearable Microsensors to Quantify Sport-Specific Movements. *Sports Med*. julio de 2015;45(7):1065-81.
45. Gómez-Carmona CD, Bastida-Castillo A, Ibáñez SJ, Pino-Ortega J. Accelerometry as a method for external workload monitoring in invasion team sports. A systematic review. *PLoS One*. 2020;15(8):e0236643.
46. Buchheit M, Simpson MB, Al Haddad H, Bourdon PC, Mendez-Villanueva A. Monitoring changes in physical performance with heart rate measures in young soccer players. *Eur J Appl Physiol*. febrero de

2012;112(2):711-23.

47. Chen MJ, Fan X, Moe ST. Criterion-related validity of the Borg ratings of perceived exertion scale in healthy individuals: a meta-analysis. *J Sports Sci.* noviembre de 2002;20(11):873-99.

48. Thorpe RT, Atkinson G, Drust B, Gregson W. Monitoring Fatigue Status in ÉliteTeam-Sport Athletes: Implications for Practice. *Int J Sports Physiol Perform.* abril de 2017;12(Suppl 2):S227-34.

49. Saw AE, Main LC, Gastein PB. Monitoring the athlete training response: subjective self-reported measures trump commonly used objective measures: a systematic review. *Br J Sports Med.* marzo de 2016;50(5):281-91.

50. Raglin JS, Morgan WP. Development of a scale for use in monitoring training-induced distress in athletes. *Int J Sports Med.* febrero de 1994;15(2):84-8.

51. Coutts AJ, Slattery KM, Wallace LK. Practical tests for monitoring performance, fatigue and recovery in triathletes. *J Sci Med Sport.* diciembre de 2007;10(6):372-81.

52. Kenttä G, Hassmén P. Overtraining and recovery. A conceptual model. *Sports Med.* julio de 1998;26(1):1-16.

53. Kellmann M. Preventing overtraining in athletes in high-intensity sports and stress/recovery monitoring. *Scand J Med Sci Sports.* octubre de 2010;20 Suppl 2:95-102.

54. Borresen J, Lambert MI. The quantification of training load, the training response and the effect on performance. *Sports Med.* 2009;39(9):779-95.

55. Billat VL, Flechet B, Petit B, Muriaux G, Koralsztein JP. Interval training

at VO₂max: effects on aerobic performance and overtraining markers. *Med Sci Sports Exerc.* enero de 1999;31(1):156-63.

56. Le Meur Y, Pichon A, Schaal K, Schmitt L, Louis J, Gueneron J, et al. Evidence of parasympathetic hyperactivity in functionally overreached athletes. *Med Sci Sports Exerc.* noviembre de 2013;45(11):2061-71.

57. Al Haddad H, Laursen PB, Chollet D, Ahmaidi S, Buchheit M. Reliability of resting and postexercise heart rate measures. *Int J Sports Med.* agosto de 2011;32(8):598-605.

58. Esco MR, Flatt AA. Ultra-short-term heart rate variability indexes at rest and post-exercise in athletes: evaluating the agreement with accepted recommendations. *J Sports Sci Med.* septiembre de 2014;13(3):535-41.

59. Plews DJ, Laursen PB, Kilding AE, Buchheit M. Heart rate variability in élitetriathletes, is variation in variability the key to effective training? A case comparison. *Eur J Appl Physiol.* noviembre de 2012;112(11):3729-41.

60. Portier H, Louisy F, Laude D, Berthelot M, Guézennec CY. Intense endurance training on heart rate and blood pressure variability in runners. *Med Sci Sports Exerc.* julio de 2001;33(7):1120-5.

61. Shetler K, Marcus R, Froelicher VF, Vora S, Kalisetti D, Prakash M, et al. Heart rate recovery: validation and methodologic issues. *J Am Coll Cardiol.* diciembre de 2001;38(7):1980-7.

62. Snyder AC, Jeukendrup AE, Hesselink MK, Kuipers H, Foster C. A physiological/psychological indicator of over-reaching during intensive training. *Int J Sports Med.* enero de 1993;14(1):29-32.

63. Hartmann U, Mester J. Training and overtraining markers in selected sport events. *Med Sci Sports Exerc.* enero de 2000;32(1):209-15.

64. Martínez-Amat A, Boulaiz H, Prados J, Marchal JA, Padial Puche P, Caba O, et al. Release of alpha-actin into serum after skeletal muscle damage. *Br J Sports Med.* noviembre de 2005;39(11):830-4.
65. Barcelos RP, Tocchetto GL, Lima FD, Stefanello ST, Rodrigues HFM, Sangoi MB, et al. Functional and biochemical adaptations of élitelevel futsal players from Brazil along a training season. *Medicina.* 2017;53(4):285-93.
66. Horta TA, Bara Filho MG, Coimbra DR, Miranda R, Werneck FZ. Training load, physical performance, biochemical markers, and psychological stress during a short preparatory period in brazilian élitemale volleyball players. *The Journal of Strength & Conditioning Research.* 2019;33(12):3392-9.
67. Miloski B, de Freitas VH, Nakamura FY, de A Nogueira FC, Bara-Filho MG. Seasonal Training Load Distribution of Professional Futsal Players: Effects on Physical Fitness, Muscle Damage and Hormonal Status. *J Strength Cond Res.* junio de 2016;30(6):1525-33.
68. Marin DP, Bolin AP, Campoio TR, Guerra BA, Otton R. Oxidative stress and antioxidant status response of handball athletes: implications for sport training monitoring. *International immunopharmacology.* 2013;17(2):462-70.
69. Twist C, Highton J. Monitoring fatigue and recovery in rugby league players. *Int J Sports Physiol Perform.* septiembre de 2013;8(5):467-74.
70. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil.* noviembre de 2002;81(11 Suppl):S52-69.
71. Hoffman JR, Kang JIE, Ratamess NA, Faigenbaum AD. Biochemical and hormonal responses during an intercollegiate football season. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 2005;37(7):1237-41.

72. Moreno-Villanueva A, Rico-González M, Pino-Ortega J. Monitoring of internal and external loads to interpret acute and chronic fatigue in indoor team sports: A systematic review. *International Journal of Sports Science & Coaching*. diciembre de 2022;17(6):1531-52.
73. Martínez AC, Seco Calvo J, Tur Marí JA, Abecia Inchaurregui LC, Orella EE, Biescas AP. Testosterone and cortisol changes in professional basketball players through a season competition. *J Strength Cond Res*. abril de 2010;24(4):1102-8.
74. Vervoorn C, Quist AM, Vermulst LJ, Erich WB, de Vries WR, Thijssen JH. The behaviour of the plasma free testosterone/cortisol ratio during a season of éliterowing training. *Int J Sports Med*. junio de 1991;12(3):257-63.
75. Viru AM, Hackney AC, Välja E, Karelson K, Janson T, Viru M. Influence of prolonged continuous exercise on hormone responses to subsequent exercise in humans. *Eur J Appl Physiol*. octubre de 2001;85(6):578-85.
76. Brownlee KK, Moore AW, Hackney AC. Relationship between circulating cortisol and testosterone: influence of physical exercise. *J Sports Sci Med*. 1 de marzo de 2005;4(1):76-83.
77. Lamm ME. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annu Rev Microbiol*. 1997;51:311-40.
78. Underdown BJ, Schiff JM. Immunoglobulin A: strategic defense initiative at the mucosal surface. *Annu Rev Immunol*. 1986;4:389-417.
79. Soler-López A, Gómez-Carmona CD, Moreno-Villanueva A, Gutiérrez AM, Pino-Ortega J. Effects of Congested Matches and Training Schedules on Salivary Markers in ÉliteFutsal Players. *Applied Sciences*. enero de 2024;14(12):4968.

80. Soler-López A, Moreno-Villanueva A, Gómez-Carmona CD, Pino-Ortega J. The Role of Biomarkers in Monitoring Chronic Fatigue Among Male Professional Team Athletes: A Systematic Review. *Sensors*. 2024;24(21):6862.
81. Neville V, Gleeson M, Folland JP. Salivary IgA as a risk factor for upper respiratory infections in éliteprofessional athletes. *Med Sci Sports Exerc*. julio de 2008;40(7):1228-36.
82. Keaney LC, Kilding AE, Merien F, Dulson DK. The impact of sport related stressors on immunity and illness risk in team-sport athletes. *J Sci Med Sport*. diciembre de 2018;21(12):1192-9.
83. Moreira A, de Moura NR, Coutts A, Costa EC, Kempton T, Aoki MS. Monitoring internal training load and mucosal immune responses in futsal athletes. *J Strength Cond Res*. mayo de 2013;27(5):1253-9.
84. Rico-González M, Clemente FM, Oliveira R, Bustamante-Hernández N, Pino-Ortega J. Part I: Relationship among Training Load Management, Salivary Immunoglobulin A, and Upper Respiratory Tract Infection in Team Sport: A Systematic Review. *Healthcare (Basel)*. 24 de marzo de 2021;9(4):366.
85. Veskoukis AS, Nikolaidis MG, Kyparos A, Kokkinos D, Nepka C, Barbanis S, et al. Effects of xanthine oxidase inhibition on oxidative stress and swimming performance in rats. *Appl Physiol Nutr Metab*. diciembre de 2008;33(6):1140-54.
86. Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, Kostaropoulos IA, Kladi-Skandali A, Balamitsi V, et al. Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Med Sci Sports Exerc*. agosto de 2006;38(8):1443-50.

87. Mylonas C, Kouretas D. Lipid peroxidation and tissue damage. In Vivo. 1999;13(3):295-309.
88. Schneider BSP, Tiidus PM. Neutrophil infiltration in exercise-injured skeletal muscle: how do we resolve the controversy? Sports Med. 2007;37(10):837-56.
89. Lippi G, Schena F, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC. Influence of acute physical exercise on emerging muscular biomarkers. Clin Chem Lab Med. 2008;46(9):1313-8.
90. Scharhag J, George K, Shave R, Urhausen A, Kindermann W. Exercise-associated increases in cardiac biomarkers. Med Sci Sports Exerc. agosto de 2008;40(8):1408-15.
91. Farinha JB, Steckling FM, Stefanello ST, Cardoso MS, Nunes LS, Barcelos RP, et al. Response of oxidative stress and inflammatory biomarkers to a 12-week aerobic exercise training in women with metabolic syndrome. Sports Med Open. 2015;1(1):19.
92. Martinovic J, Dopsaj V, Dopsaj MJ, Kotur-Stevuljevic J, Vujovic A, Stefanovic A, et al. Long-term effects of oxidative stress in volleyball players. Int J Sports Med. diciembre de 2009;30(12):851-6.
93. Margonis K, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Douroudos I, Chatzinikolaou A, et al. Oxidative stress biomarkers responses to physical overtraining: implications for diagnosis. Free Radic Biol Med. 15 de septiembre de 2007;43(6):901-10.
94. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress : relationship with exercise and training. Sports Med. 2006;36(4):327-58.
95. Schipper RG, Silletti E, Vingerhoeds MH. Saliva as research material:

biochemical, physicochemical and practical aspects. Arch Oral Biol. diciembre de 2007;52(12):1114-35.

96. Clemente FM, Martinho R, Calvete F, Mendes B. Training load and well-being status variations of élitefutsal players across a full season: Comparisons between normal and congested weeks. Physiol Behav. 15 de marzo de 2019;201:123-9.

97. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, Ioannidis JPA, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. BMJ. 21 de julio de 2009;339:b2700.

98. Page MJ, McKenzie JE, Bossuyt PM, Boutron I, Hoffmann TC, Mulrow CD, et al. The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. BMJ. 29 de marzo de 2021;372:n71.

99. Rico-González M, Pino-Ortega J, Clemente FM, Arcos AL. Guidelines for performing systematic reviews in sports science. Biol Sport. marzo de 2022;39(2):463-71.

100. Slim K, Nini E, Forestier D, Kwiatkowski F, Panis Y, Chipponi J. Methodological index for non-randomized studies (minors): development and validation of a new instrument. ANZ J Surg. septiembre de 2003;73(9):712-6.

101. Kim SY, Park JE, Lee YJ, Seo HJ, Sheen SS, Hahn S, et al. Testing a tool for assessing the risk of bias for nonrandomized studies showed moderate reliability and promising validity. J Clin Epidemiol. abril de 2013;66(4):408-14.

102. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of «antioxidant power»: the FRAP assay. Anal Biochem. 15 de julio de 1996;239(1):70-6.

103. Wang D, Feng JF, Zeng P, Yang YH, Luo J, Yang YW. Total oxidant/antioxidant status in sera of patients with thyroid cancers. *Endocr Relat Cancer*. diciembre de 2011;18(6):773-82.
104. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 7 de mayo de 1976;72:248-54.
105. Field A. *Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics*. 4.^a ed. Londres: SAGE; 2013. 954 p.
106. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods*. mayo de 2007;39(2):175-91.
107. Cohen J. Chapter 8. The analysis of variance and covariance. En: *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*. 2nd Edition. New York, NY: Routledge Academic; 1988. p. 273-406.
108. Hopkins WG, Marshall SW, Batterham AM, Hanin J. *Progressive Statistics for Studies in Sports Medicine and Exercise Science: Medicine & Science in Sports & Exercise*. enero de 2009;41(1):3-13.
109. Kamarauskas P, Lukonaitienė I, Kvedaras M, Venckūnas T, Conte D. Relationships between weekly changes in salivary hormonal responses and load measures during the pre-season phase in professional male basketball players. *bs*. 2023;40(2):353-8.
110. Schelling X, Calleja-González J, Terrados Cepeda N. Hormonal analysis in élitebasketball during a season. *Revista de psicología del deporte*. 2009;18(3):0363-7.
111. Schelling X, Calleja-González J, Torres-Ronda L, Terrados N. Using

testosterone and cortisol as biomarker for training individualization in élitebasketball: A 4-year follow-up study. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 2015;29(2):368-78.

112. Souglis A, Bogdanis GC, Giannopoulou I, Papadopoulos C, Apostolidis N. Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an élitecompetitive level. *Res Sports Med*. 2015;23(1):59-72.

113. Spanidis Y, Goutzourelas N, Stagos D, Mpesios A, Priftis A, Bar-Or D, et al. Variations in oxidative stress markers in élitebasketball players at the beginning and end of a season. *Exp Ther Med*. enero de 2016;11(1):147-53.

114. Talaee M, Nazem F, Taherabadi SJ, Sajadi S. Effects of six weeks combined training Program on Hematological Parameters in élitebasketball players. *Annals of Applied Sport Science*. 2017;5(1):15-23.

115. Mohr M, Draganidis D, Chatzinikolaou A, Barbero-Álvarez JC, Castagna C, Douroudos I, et al. Muscle damage, inflammatory, immune and performance responses to three football games in 1 week in competitive male players. *Eur J Appl Physiol*. enero de 2016;116(1):179-93.

116. Moreira A, Arsati F, de Oliveira Lima Arsati YB, da Silva DA, de Araújo VC. Salivary cortisol in top-level professional soccer players. *Eur J Appl Physiol*. mayo de 2009;106(1):25-30.

117. Rowell AE, Aughey RJ, Hopkins WG, Esmaeili A, Lazarus BH, Cormack SJ. Effects of Training and Competition Load on Neuromuscular Recovery, Testosterone, Cortisol, and Match Performance During a Season of Professional Football. *Front Physiol*. 2018;9:668.

118. Saidi K, Zouhal H, Boullosa D, Dupont G, Hackney AC, Bideau B, et al.

Biochemical Markers and Wellness Status During a Congested Match Play Period in ÉliteSoccer Players. *International Journal of Sports Physiology and Performance*. 1 de abril de 2022;17(4):605-20.

119. Springham M, Williams S, Waldron M, Strudwick AJ, Mclellan C, Newton RU. Salivary immunoendocrine and self-report monitoring profiles across an elite-level professional football season. *Med Sci Sports Exerc*. 2021;53(5):918-27.

120. Bresciani G, Cuevas MJ, Garatachea N, Molinero O, Almar M, De Paz JA, et al. Monitoring biological and psychological measures throughout an entire season in male handball players. *European Journal of Sport Science*. noviembre de 2010;10(6):377-84.

121. McLean BD, Coutts AJ, Kelly V, McGuigan MR, Cormack SJ. Neuromuscular, Endocrine, and Perceptual Fatigue Responses During Different Length Between-Match Microcycles in Professional Rugby League Players. *International Journal of Sports Physiology & Performance*. septiembre de 2010;5(3):367-83.

122. Lindsay A, Lewis JG, Scarrott C, Gill N, Gieseg SP, Draper N. Assessing the Effectiveness of Selected Biomarkers in the Acute and Cumulative Physiological Stress Response in Professional Rugby Union through Non-invasive Assessment. *Int J Sports Med*. junio de 2015;36(6):446-54.

123. Twist C, Waldron M, Highton J, Burt D, Daniels M. Neuromuscular, biochemical and perceptual post-match fatigue in professional rugby league forwards and backs. *Journal of Sports Sciences*. 15 de febrero de 2012;30(4):359-67.

124. Coad S, Gray B, Wehbe G, McLellan C. Physical demands and salivary immunoglobulin A responses of éliteAustralian rules football athletes to match

play. *Int J Sports Physiol Perform*. julio de 2015;10(5):613-7.

125. Coad S, Gray B, McLellan C. Seasonal Analysis of Mucosal Immunological Function and Physical Demands in Professional Australian Rules Footballers. *Int J Sports Physiol Perform*. julio de 2016;11(5):574-80.

126. Cormack SJ, Newton RU, McGuigan MR, Cormie P. Neuromuscular and endocrine responses of éliteplayers during an Australian rules football season. *International journal of sports physiology and performance*. 2008;3(4):439-53.

127. Cunniffe B, Griffiths H, Proctor W, Davies B, Baker JS, Jones KP. Mucosal Immunity and Illness Incidence in ÉliteRugby Union Players across a Season. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. marzo de 2011;43(3):388-97.

128. Tiernan C, Lyons M, Comyns T, Nevill AM, Warrington G. Salivary IgA as a Predictor of Upper Respiratory Tract Infections and Relationship to Training Load in ÉliteRugby Union Players. *J Strength Cond Res*. marzo de 2020;34(3):782-90.

129. Birdsey LP, Weston M, Russell M, Johnston M, Cook CJ, Kilduff LP. Neuromuscular, physiological and perceptual responses to an élitenetball tournament. *J Sports Sci*. octubre de 2019;37(19):2169-74.

130. Botonis PG, Toubekis AG. Intensified Olympic Preparation: Sleep and Training-Related Hormonal and Immune Responses in Water Polo. *Int J Sports Physiol Perform*. 1 de febrero de 2023;18(2):187-94.

131. Cunniffe B, Griffiths H, Proctor W, Jones KP, Baker JS, Davies B. Illness monitoring in team sports using a Web-based training diary. *Clin J Sport Med*. noviembre de 2009;19(6):476-81.

132. Cunniffe B, Hore AJ, Whitcombe DM, Jones KP, Baker JS, Davies B.

Time course of changes in immunoendocrine markers following an international rugby game. *Eur J Appl Physiol.* enero de 2010;108(1):113-22.

133. Doeven SH, Brink MS, Kosse SJ, Lemmink KAPM. Postmatch recovery of physical performance and biochemical markers in team ball sports: a systematic review. *BMJ Open Sport Exerc Med.* 2018;4(1):e000264.

134. Halson SL. Monitoring training load to understand fatigue in athletes. *Sports Med.* noviembre de 2014;44 Suppl 2:S139-147.

135. Hartmann U, Mester J. Training and overtraining markers in selected sport events. *Medicine and science in sports and exercise.* 2000;32(1):209-15.

136. Jones MR, West DJ, Harrington BJ, Cook CJ, Bracken RM, Shearer DA, et al. Match play performance characteristics that predict post-match creatine kinase responses in professional rugby union players. *BMC Sports Sci Med Rehabil.* diciembre de 2014;6(1):38.

137. McLellan CP, Lovell DI, Gass GC. Creatine kinase and endocrine responses of éliteplayers pre, during, and post rugby league match play. *The Journal of Strength & Conditioning Research.* 2010;24(11):2908-19.

138. Souglis A, Bogdanis GC, Giannopoulou I, Papadopoulos C, Apostolidis N. Comparison of inflammatory responses and muscle damage indices following a soccer, basketball, volleyball and handball game at an élitecompetitive level. *Res Sports Med.* 2015;23(1):59-72.

139. Roe G, Darrall-Jones J, Till K, Phibbs P, Read D, Weakley J, et al. Between-Days Reliability and Sensitivity of Common Fatigue Measures in Rugby Players. *Int J Sports Physiol Perform.* julio de 2016;11(5):581-6.

140. Gutenbrunner C. Circadian variations of the serum creatine kinase level- a masking effect? *Chronobiol Int.* julio de 2000;17(4):583-90.

141. Gleeson M, Bishop N, Oliveira M, McCauley T, Tauler P, Muhamad AS. Respiratory infection risk in athletes: association with antigen-stimulated IL-10 production and salivary IgA secretion. *Scand J Med Sci Sports*. junio de 2012;22(3):410-7.
142. Mortatti AL, Moreira A, Aoki MS, Crewther BT, Castagna C, de Arruda AFS, et al. Effect of competition on salivary cortisol, immunoglobulin A, and upper respiratory tract infections in elite young soccer players. *J Strength Cond Res*. mayo de 2012;26(5):1396-401.
143. Miguel M, Oliveira R, Loureiro N, García-Rubio J, Ibáñez SJ. Load Measures in Training/Match Monitoring in Soccer: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*. 8 de marzo de 2021;18(5):2721.
144. Halson SL. Monitoring training load to understand fatigue in athletes. *Sports Med*. noviembre de 2014;44 Suppl 2(Suppl 2):S139-147.
145. Saw AE, Main LC, Gustin PB. Monitoring the athlete training response: subjective self-reported measures trump commonly used objective measures: a systematic review. *Br J Sports Med*. marzo de 2016;50(5):281-91.
146. Carmichael MA, Thomson RL, Moran LJ, Wycherley TP. The Impact of Menstrual Cycle Phase on Athletes' Performance: A Narrative Review. *Int J Environ Res Public Health*. 9 de febrero de 2021;18(4):1667.
147. Williams T, Walz E, Lane AR, Pebole M, Hackney AC. The effect of estrogen on muscle damage biomarkers following prolonged aerobic exercise in eumenorrheic women. *Biol Sport*. septiembre de 2015;32(3):193-8.
148. Dannecker EA, Liu Y, Rector RS, Thomas TR, Fillingim RB, Robinson ME. Sex differences in exercise-induced muscle pain and muscle damage. *J Pain*. diciembre de 2012;13(12):1242-9.

149. Hunter SK. The Relevance of Sex Differences in Performance Fatigability. *Med Sci Sports Exerc.* noviembre de 2016;48(11):2247-56.
150. Gleeson M. Mucosal immunity and respiratory illness in éliteathletes. *Int J Sports Med.* mayo de 2000;21 Suppl 1:S33-43.
151. Gleeson M, McDonald WA, Pyne DB, Cripps AW, Francis JL, Fricker PA, et al. Salivary IgA levels and infection risk in élitesswimmers. *Med Sci Sports Exerc.* enero de 1999;31(1):67-73.
152. Nieman DC, Dumke CI, Henson DA, McAnulty SR, McAnulty LS, Lind RH, et al. Immune and oxidative changes during and following the Western States Endurance Run. *Int J Sports Med.* octubre de 2003;24(7):541-7.
153. Nieman DC, Henson DA, Fagoaga OR, Utter AC, Vinci DM, Davis JM, et al. Change in salivary IgA following a competitive marathon race. *Int J Sports Med.* enero de 2002;23(1):69-75.
154. Fahlman MM, Engels HJ, Morgan AL, Kolokouri I. Mucosal IgA response to repeated wingate tests in females. *Int J Sports Med.* febrero de 2001;22(2):127-31.
155. Mackinnon LT, Ginn E, Seymour GJ. Decreased salivary immunoglobulin A secretion rate after intense interval exercise in élitekayakers. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1993;67(2):180-4.
156. MacKinnon LT, Jenkins DG. Decreased salivary immunoglobulins after intense interval exercise before and after training. *Med Sci Sports Exerc.* junio de 1993;25(6):678-83.
157. Sari-Sarraf V, Reilly T, Doran DA. Salivary IgA response to intermittent and continuous exercise. *Int J Sports Med.* noviembre de 2006;27(11):849-55.

158. Blannin AK, Robson PJ, Walsh NP, Clark AM, Glennon L, Gleeson M. The effect of exercising to exhaustion at different intensities on saliva immunoglobulin A, protein and electrolyte secretion. *Int J Sports Med.* noviembre de 1998;19(8):547-52.
159. Koch AJ, Wherry AD, Petersen MC, Johnson JC, Stuart MK, Sexton WL. Salivary immunoglobulin A response to a collegiate rugby game. *J Strength Cond Res.* febrero de 2007;21(1):86-90.
160. Tharp GD. Basketball exercise and secretory immunoglobulin A. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1991;63(3-4):312-4.
161. Tomasi TB, Trudeau FB, Czerwinski D, Erredge S. Immune parameters in athletes before and after strenuous exercise. *J Clin Immunol.* julio de 1982;2(3):173-8.
162. Walsh NP, Blannin AK, Clark AM, Cook L, Robson PJ, Gleeson M. The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. *J Sports Sci.* febrero de 1999;17(2):129-34.
163. Gleeson M. *Immune Function in Sport and Exercise.* Elsevier Health Sciences; 2006. 338 p.
164. Gleeson M, Bishop N, Oliveira M, McCauley T, Tauler P, Muhamad AS. Respiratory infection risk in athletes: association with antigen-stimulated IL-10 production and salivary IgA secretion. *Scand J Med Sci Sports.* junio de 2012;22(3):410-7.
165. Fahlman MM, Engels HJ. Mucosal IgA and URTI in American college football players: a year longitudinal study. *Med Sci Sports Exerc.* marzo de 2005;37(3):374-80.
166. Gleeson M, Pyne DB. Special feature for the Olympics: effects of

exercise on the immune system: exercise effects on mucosal immunity. Immunol Cell Biol. octubre de 2000;78(5):536-44.

167. Novas AMP, Rowbottom DG, Jenkins DG. Tennis, incidence of URTI and salivary IgA. Int J Sports Med. abril de 2003;24(3):223-9.

168. Beneke R, Leithäuser RM, Ochentel O. Blood lactate diagnostics in exercise testing and training. Int J Sports Physiol Perform. marzo de 2011;6(1):8-24.

169. Bourdon PC, Cardinale M, Murray A, Gastin P, Kellmann M, Varley MC, et al. Monitoring athlete training loads: consensus statement. International journal of sports physiology and performance. 2017;12(s2):S2-161.

170. Abdelkrim NB, Castagna C, Jabri I, Battikh T, El Fazaa S, El Ati J. Activity profile and physiological requirements of junior élitebasketball players in relation to aerobic-anaerobic fitness. The Journal of Strength & Conditioning Research. 2010;24(9):2330-42.

171. Reche-Soto P, Cardona-Nieto D, Diaz-Suarez A, Bastida-Castillo A, Gomez-Carmona C, Garcia-Rubio J, et al. Player load and metabolic power dynamics as load quantifiers in soccer. Journal of Human Kinetics. 2019;69:259.

172. Reche-Soto P, Cardona D, Díaz A, Gómez-Carmona C. ACELT Y PLAYER LOAD: DOS VARIABLES PARA LA CUANTIFICACIÓN DE LA CARGA NEUROMUSCULAR ACELT AND PLAYER LOAD: TWO VARIABLES TO QUANTIFY NEUROMUSCULAR LOAD. Rev Int Med Cienc Act Fís Deporte. 2019;20:167-83.

173. Rabassa-Blanco J, Palma-Linares I. Efectos de los suplementos de proteína y aminoácidos de cadena ramificada en entrenamiento de fuerza:

revisión bibliográfica. Revista Española de Nutrición Humana y Dietética. 2017;21(1):55-73.

174. Bredt S da GT, Chagas MH, Peixoto GH, Menzel HJ, de Andrade AGP. Understanding player load: Meanings and limitations. Journal of human kinetics. 2020;71:5.

175. Impellizzeri FM, Marcora SM, Coutts AJ. Internal and external training load: 15 years on. Int J Sports Physiol Perform. 2019;14(2):270-3.

176. Losada-Benítez JA, Barbero-Álvarez JC. Monitorización y control de la carga física y técnica en el microciclo competitivo en fútbol. Logía, educación física y deporte: Revista Digital de Investigación en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte. 2022;3(1):58-74.

ANEXOS

The Role of Biomarkers in Monitoring Chronic Fatigue Among Male Professional Team Athletes: A Systematic Review

Alejandro Soler-López ^{1,2,*} , Adrián Moreno-Villanueva ^{2,3} , Carlos D. Gómez-Carmona ^{2,4,5,*} 
and José Pino-Ortega ^{1,2} 

¹ Department of Physical Activity and Sport, Faculty of Sport Sciences, University of Murcia, 30720 San Javier, Spain; josepinoortega@um.es

² BioVetMed & SportSci Research Group, University of Murcia, 30100 Murcia, Spain; adrian.moreno@ui1.es

³ Faculty of Health Sciences, Isabel I University, 09003 Burgos, Spain

⁴ Research Group in Optimization of Training and Sports Performance (GOERD), Department of Didactics of Music Plastic and Body Expression, Faculty of Sport Science, University of Extremadura, 10003 Caceres, Spain

⁵ Department of Music, Plastic and Body Expression, Faculty of Human and Social Sciences, University of Zaragoza, 44003 Teruel, Spain

* Correspondence: a.solerlopez@um.es (A.S.-L.); carlosdavid.gomez@um.es (C.D.G.-C.)

Abstract: This systematic review synthesizes evidence on biomarker responses to physiological loads in professional male team sport athletes, providing insights into induced fatigue states. Structured searches across major databases yielded 28 studies examining various biomarkers in elite team sport players. Studies evaluated muscle damage markers, anabolic/catabolic hormones reflecting metabolic strain, inflammatory markers indicating immune activity and tissue damage, immunological markers tied to infection risk, and oxidative stress markers showing redox imbalances from excessive physiological load. Responses were examined in official matches and training across competitive seasons. The evidence shows that professional team sports induce significant alterations in all studied biomarkers, reflecting measurable physiological strain, muscle damage, oxidative stress, inflammation, and immunosuppression during intensive exercise. These effects tend to be larger and more prolonged after official matches compared to training. Reported recovery time courses range from 24-h to several days post-exercise. Monitoring biomarkers enables quantifying cumulative fatigue and physiological adaptations to training/competition loads, helping to optimize performance while mitigating injury and overtraining. Key biomarkers include creatine kinase, testosterone, cortisol, testosterone/cortisol ratio, salivary immunoglobulin-A, and markers of inflammation and oxidative stress. Further research should extend biomarker monitoring to cover psychological stress and affective states alongside physiological metrics for deeper insight into athlete wellness and readiness.

Keywords: physiological load; training adaptation; muscle damage; immune markers; hormonal responses



Citation: Soler-López, A.; Moreno-Villanueva, A.; Gómez-Carmona, C.D.; Pino-Ortega, J. The Role of Biomarkers in Monitoring Chronic Fatigue Among Male Professional Team Athletes: A Systematic Review. *Sensors* **2024**, *24*, 6862. <https://doi.org/10.3390/s24216862>

Academic Editor: James F. Rusling

Received: 26 September 2024

Revised: 16 October 2024

Accepted: 18 October 2024

Published: 25 October 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Achieving optimal performance while minimizing injury risk in team sport athletes requires balancing between training load (TL) and recovery [1–3]. The training program aims to enhance performance by gradually increasing load, disrupting athletes' internal equilibrium [4,5]. However, professional sports demand that athletes achieve peak performance within a limited timeframe or over an extended period of time [5]. As a result, high TL is utilized during the preparation period to achieve performance gains [6]. Coaches employ planning, monitoring, and organizational strategies to manage the training program and evaluate athletes' responses [7]. Despite available knowledge, there remains a limited understanding of the specific interactions between TL, resultant fatigue response, and subsequent performance. In this context, beyond the standard parameters of performance and load management such as HRV (heart rate variability) [8,9], RPE (rate of perceived

exertion) [6,10], Linear Position Transducers and Linear Velocity [11–13], or tracking systems [14,15], it is imperative to consider the integration of biochemical markers. These assessments are crucial in assessments to help prevent imbalances and overtraining during congested schedules [16]. Therefore, successful training planning in team sports relies on the accurate monitoring and interpreting of training adaptations using objective data on physical performance, biochemical markers, and physiological variables [1,17–19].

The sports science literature has extensively investigated the impact of TL on various biochemical markers that reflect physiological stress and recovery [20–22]. Several biochemical markers such as creatine kinase (CK), C-reactive protein (CRP), and creatinine have been linked to exercise-induced muscle damage and used to quantify biochemical responses to TL changes [23,24]. However, evidence for CK changes with acute or chronic TL remains moderate [24], and its use in TL monitoring is still under debate due to variability in CK activity based on exercise type, intensity, duration, and evaluation time [20,23]. On the other hand, testosterone, cortisol, and the testosterone/cortisol ratio (T/Cr) are other biochemical markers associated with TL-induced stress [20,25,26]. These hormonal markers reflect the metabolic adaptations and recovery responses to TL across seasons for specific sports [27]. While alterations in testosterone and cortisol levels caused by chronic training remain unclear, the T/Cr ratio changes show moderate evidence [24]. Salivary immunoglobulin-A (s-IgA) and α -amylase (s-AA) are other biomarkers of interest, which are antimicrobial proteins secreted by mucosal cells under sympathetic nervous system (SNS) control [28]. These markers have been used to track TL changes in soccer players and athletes, as their stress-related secretion indicates acute stress [28–30]. However, in response to prolonged stressful stimuli or increased physical training demands, a reduction in s-IgA and s-AA occurs, which is associated with an increased risk of upper respiratory tract infection (URTI) and symptoms (URTSs) in soccer players [31,32].

The scientific literature is increasingly recognizing sport as a complex psycho-physiological activity, wherein even minor TL fluctuations significantly influence athletes' physical performance, stress levels, and wellness status [2,33]. Consequently, several studies have emphasized biomarkers' utility for monitoring training-related stress, strain, recovery, and wellness to identify early signs of fatigue and potential overtraining in high-performance sports programs. However, it is important to note that, as of now, there is no systematic review addressing the most used biomarkers to detect fatigue in professional team athletes. Reviews to date primarily focus on narrow areas: specifically, soccer [34–36], indoor sports [37], and team ball sports that include both professional and amateur levels [38]. This absence highlights a critical gap in the literature, underscoring the need for this systematic review to synthesize and evaluate the existing evidence on biomarkers in professional sports settings. Therefore, the aim of this study is to determine the primary biomarkers used in professional team sport athletes for detecting fatigue arising from training or match loads.

2. Materials and Methods

2.1. Design

The present study was a systematic review conducted following the PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) protocol [39,40]. PRISMA allows for synthesizing the most relevant information on a topic to make it more practical and applicable, providing readers with up-to-date and useful information on a constantly evolving research area.

2.2. Search Strategy

For this systematic review, we consulted the following electronic databases: PubMed, Scopus, SportDiscus, and Web of Science. We selected these databases as they are comprehensive resources that index the sports science literature, enabling access to domain-specific articles relevant to the review topic [41]. The search was conducted on 22 December 2023 using Boolean operators “AND” and “OR” to combine the keywords: “(“elite” OR

“professional”) AND (“team sport”) AND (“physiological” OR “immunological” OR “biochemical” OR “hormonal”) AND (“fatigue” OR “performance” OR “recovery” OR “stress” OR “wellness”). Figure 1 presents the search process results via a flowchart. We also reviewed the reference lists of the included studies to identify additional relevant articles. Any disagreements regarding study inclusion were resolved by consensus between two investigators (A.S.-L. and C.D.G.-C.) and arbitration by a third investigator (J.P.-O.) when needed.

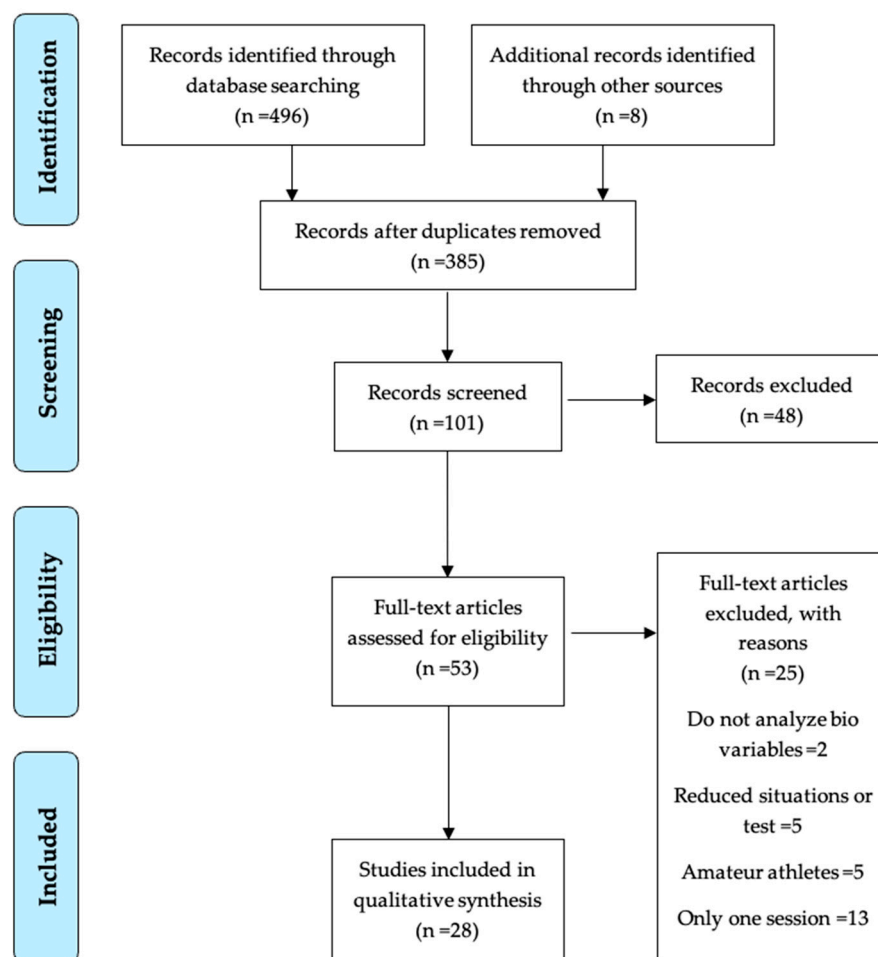


Figure 1. PRISMA flow diagram.

2.3. Inclusion and Exclusion Criteria

The selection of studies for this review was based on specific criteria related to biomarker reporting and measurement. The inclusion criteria for articles were (1) studies reporting on at least one of the following categories of biomarkers: (a) muscle anabolic/catabolic hormones (e.g., testosterone, cortisol), (b) muscle damage markers (e.g., creatine kinase, lactate dehydrogenase), (c) immunological markers (e.g., salivary immunoglobulin A, immune cell function), (d) oxidative stress markers (e.g., reactive oxygen species, antioxidant capacity), and (e) inflammatory markers (e.g., C-reactive protein, cytokines); (2) a clear description of biomarker acquisition methods, including (a) sample type (e.g., blood, saliva, urine) (b) sampling time points (e.g., pre-exercise, post-exercise, during recovery), and (c) analytical techniques used (e.g., ELISA, spectrophotometry); (3) studies conducted on elite or professional male team sport athletes; (4) biomarker data collected from official matches and/or training sessions; and (5) longitudinal studies or those analyzing more than one official competition match or training session.

On the other hand, the exclusion criteria were (1) studies on amateur or youth athletes; (2) laboratory-based or simulated exercise scenarios; (3) studies that did not provide

adequate details on biomarker measurement methods; (4) single time-point measurements without consideration of changes over time; (5) studies focusing solely on biomarkers not directly related to fatigue or recovery (e.g., nutritional markers); and (6) documents such as theses, books, or systematic reviews (excluded only as a bibliographic source, not from systematization). The minimum publication year was 2000, as earlier reviews noted this as the starting point.

2.4. Screening Strategy and Study Selection

One investigator (A.S.-L.) conducted searches, identified relevant studies, and extracted data in a standardized, disaggregated manner. The review process followed Prisma guidelines [39] and recommendations for sports science systematic reviews [41] (Figure 1). The extracted articles were organized via a Microsoft Excel (version 16.78, Microsoft, Redmond, WA, USA) database detailing the database, keywords, article identifiers, and publication year. The articles were reviewed, and duplicates were eliminated. Then, the titles and abstracts of the remaining articles were read, and those unrelated to the topic were discarded. When necessary, the full text was read to verify compliance with the eligibility criteria and judge the relevance of the article. After this process, a total of 28 articles were selected. The data were analyzed and tabulated considering contextual variables such as the type of sport (soccer, basketball, volleyball, or handball), the type of event (matches or training), and the type of bio-measured variable (physiological, immunological, biochemical, or hormonal).

2.5. Quality of Studies

Two authors (A.S.-L. and C.D.G.-C.) assessed the risk of reporting bias via the Methodological Index for Non-Randomized Studies (MINORS) checklist [42]. MINORS has twelve items, four of which are only applicable to comparative studies. Each item is scored 0 when the criterion is not reported in the article, 1 if it is reported but not sufficiently met, or 2 when it is adequately met. Higher scores indicate a good methodological quality of the article and a low risk of bias. Therefore, the highest possible score is 16 for non-comparative studies and 24 for comparative studies. MINORS has provided acceptable inter and intra-rater reliability, internal consistency, content validity, and discriminant validity [42,43].

3. Results

3.1. Identification and Selection of Studies

After conducting the search, 504 relevant studies were initially found (496 databases and 8 additional records through other sources). Once duplicate studies were eliminated, there remained 385 unique studies to review. The titles and abstracts of these 385 studies were screened, leading to the identification of 53 potentially eligible studies. The remaining studies were excluded due to their lack of relevance to the subject matter of the manuscript. The full texts of these 53 studies were retrieved and inspected against the inclusion/exclusion criteria. This full-text review process filtered out 25 studies that did not satisfy the criteria. Ultimately, 28 studies successfully were selected. The process of searching, identifying, and selecting the studies is illustrated in Figure 1.

3.2. Methodological Quality

The results of the methodological risk of bias of the articles included in this review can be found in Table 1. From the total 28 studies, 13 studies are comparative (24 maximum points) and 15 are non-comparative (16 maximum points). Nineteen studies present a low risk of bias with B Score (two comparative and eleven non-comparative studies). No study has an A score. Four comparative studies present a high risk of bias (C Score). The worst evaluated item in all types of studies is item 5 (Evaluations carried out in a neutral way), while the worst evaluated item in comparative studies is item 8 (A control group having the gold standard intervention).

Table 1. Methodological risk of bias assessment using MINORS checklist.

Study	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Score
Barcelos et al. (2017) [44]	2	2	1	1	0	2	2	0	2	2	1	2	17/24
Birdsey et al. (2019) [45]	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Botonis et al. (2023) [46]	1	2	1	1	2	1	2	0	2	1	0	1	14/24
Bresciani et al. (2010) [47]	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	2	2	20/24
Coad et al. (2015) [48]	1	2	1	1	2	1	2	0	2	1	0	1	14/24
Coad et al. (2016) [49]	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	15/16
Cormack et al. (2008) [50]	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Cunniffe et al. (2011) [51]	2	1	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	14/16
Horta et al. (2019) [52]	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	1	1	18/24
Kamarauskas et al. (2023) [53]	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	2	2	20/24
Lindsay et al. (2015) [54]	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	1	1	18/24
Marin et al. (2013) [55]	2	2	2	2	1	2	2	0	2	1	2	2	20/24
Martínez et al. (2010) [56]	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	1	1	18/24
McLean et al. (2010) [30]	2	2	1	1	0	2	2	0	2	2	1	2	17/24
Miloski et al. (2016) [20]	2	2	2	1	0	2	2	-	-	-	-	2	13/16
Mohr et al. (2016) [57]	1	2	2	1	2	1	2	-	-	-	-	1	12/16
Moreira et al. (2009) [58]	2	2	2	2	0	2	2	0	2	0	1	1	16/24
Moreira et al. (2013) [59]	1	1	2	2	1	2	2	0	2	0	2	1	16/24
Rowell et al. (2018) [60]	2	2	2	2	1	0	2	-	-	-	-	1	12/16
Saidi et al. (2022) [61]	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	15/16
Schelling et al. (2009) [62]	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Schelling et al. (2015) [63]	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	2	15/16
Souglis et al. (2015) [64]	2	2	2	2	1	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Spanidis et al. (2016) [65]	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Springham et al. (2021) [66]	2	2	2	2	1	1	2	-	-	-	-	1	13/16
Talaei et al. (2017) [67]	2	2	2	2	1	1	2	0	2	2	2	2	20/24
Tiernan et al. (2020) [68]	2	2	1	2	2	2	2	-	-	-	-	1	14/16
Twist et al. (2012) [69]	2	2	2	2	0	2	2	-	-	-	-	2	14/16

Note. The MINORS checklist asks the following information (2 = High quality; 1 = Medium quality; 0 = Low quality): 1. Clearly defined objective; 2. Inclusion of patients consecutively; 3. Information collected retrospectively; 4. Assessments adjusted to objective; 5. Evaluations carried out in a neutral way; 6. Follow-up phase consistent with the objective; 7. Dropout rate during follow-up less than 5%; 8. A control group having the gold standard intervention; 9. Contemporary groups; 10. Baseline equivalence of groups; 11. Prospective calculation of the sample size; and 12. Appropriate statistical analysis.

3.3. Characteristics of the Selected Studies

Table 2 shows the characteristics of the selected studies in the present systematic review. The included studies ranged from 2008 to 2023. The earliest study was published in 2008, while over 70% of the studies ($n = 16$) emerged from 2015 onwards, highlighting the growing research attention on this topic.

The selected studies involved elite athletes from different team sports. The most evaluated sport was basketball ($n = 7$) [53,56,62–65,67], followed by soccer ($n = 6$) [57,58,60,61,64,66], handball ($n = 3$) [47,55,64], futsal ($n = 3$) [20,44,59], rugby ($n = 3$) [30,54,69], Australian football ($n = 3$) [48–50], volleyball ($n = 2$) [52,64], rugby union ($n = 2$) [51,68], netball ($n = 1$) [45], and water-polo ($n = 1$) [46].

Regarding the context of evaluation, eight studies analyzed responses to official matches [45,48,49,54,58,60,64,69], eight studies focused exclusively on regular training [20,46,47,51,52,59,67,68], and twelve studies examined both matches and training workloads [30,44,50,55–57,61–63,65,66,68]. When comparing official matches with training sessions, official matches impose greater physiological demands, which provoke heightened stress responses.

The most frequently assessed biomarkers were muscle anabolic/catabolic hormones (testosterone and cortisol) ($n = 15$) [30,45,46,50,52,53,55,57,58,60,63,64,66,70,71], damage markers (creatine kinase and lactate dehydrogenase) ($n = 9$) [20,44,45,52,55,57,61,64,69], immunological markers (Immunoglobulin A and immune cell function) ($n = 8$) [46,48,49,51,54,59,66,68], oxidative stress markers (reactive oxygen species and antioxidant capacity) ($n = 6$) [44,47,55,57,65,67], and inflammatory markers (C-reactive protein and cytokines) ($n = 4$) [47,57,61,64].

Table 2. Characteristics of the selected studies.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Barcelos et al. (2017) [44]	8 elite male futsal players (Age: 25.5 ± 5.4 years)	Preseason and season	Matches and training	Muscle damage markers CK and LDH. Oxidative stress markers (IMA and AOPP)	At 3 points in time: End of preseason (T1) Two weeks before Intercontinental Cup (T2) End of season (T3)	Lower values of CK (271–413 vs. 446–777 U/L) and LDH (175–232 vs. 359–441 U/L). Seasonal values of IMA and AOPP.	Biochemical markers can be useful as a means of training monitoring. A one-week fine-tuning period before the main championship (T2) seems to be successful in achieving an optimal state of recovery.
Birdsey et al. (2019) [45]	11 international female netball players (Age: 25 ± 4 years; Mass: 71.8 ± 7.8 kg; Height: 1.8 ± 0.1 m)	During a three-day tournament and the following three days.	Matches	Testosterone, Cortisol, CK	CK measured in the morning of each game day and 62 h post-tournament. Cortisol and testosterone measured at similar intervals.	Cortisol: Observed a small and possibly significant decrease on the second tournament day ($0.47 \mu\text{g/dL} \pm 0.23$). On the third day, a trivial, likely non-significant change ($0.65 \mu\text{g/dL} \pm 0.29$). Three days post-tournament, changes were unclear ($0.58 \mu\text{g/dL} \pm 0.34$). Testosterone: Registered a small and possibly significant decrease both on the second ($102.9 \text{ pg/mL} \pm 25.9$) and third days ($105.4 \text{ pg/mL} \pm 25.3$) of the tournament. Three days later, the decrease remained small and possibly significant ($95.7 \text{ pg/mL} \pm 27.0$). Creatine Kinase (CK): A very large and likely significant increase on the second ($217.2 \text{ U/L} \pm 67.4$) and third days ($283.0 \text{ U/L} \pm 121.3$) of the tournament. Three days later, changes in CK levels were unclear ($141.9 \text{ U/L} \pm 113.0$)	CK buildup suggests muscle damage during the tournament, with recovery after three days. The decrease in testosterone suggests an influence on performance and motivation. Cortisol showed an initial decrease followed by normalization, indicating adaptation to tournament stress.
Botonis et al. (2023) [46]	8 international water polo players (Age: 28.6 ± 3.9 years; Body mass: 98.9 ± 11.0 kg; Stature: 190.4 ± 6.1 cm)	16 days divided into three phases: PRE-CAMP (3 days before training camp), CAMP (5-day training camp), and POST-CAMP (8 days of congested training and competition).	Training	salivary cortisol, immunoglobulin A	Collection of salivary cortisol, immunoglobulin-A, and subjective wellness measured during PRE-CAMP, CAMP, and POST-CAMP.	In CAMP compared with PRE-CAMP sleep interruptions and salivary cortisol were higher ($p < 0.01$, $d = 1.6$, $d = 1.9$, respectively). In POST-CAMP, reduced workload was followed by increased sleep efficiency, reduced sleep disruptions, and moderately affected salivary cortisol; however, overall well-being remained unchanged.	Significant workload increases during a training camp induce sleep disturbances and salivary cortisol increases, which are reversed in POST-CAMP. This suggests that increased workload alongside inadequate recovery affects sleep patterns and may elevate infection risk.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Bresciani et al. (2010) [47]	14 handball male (Age: 20.1 ± 2.5 years)	Preseason and season	Training	Oxidative stress markers (C-reactive protein, GSSG, GSH, and GSH/GSSG ratio)	At 5 time points: Before preseason End of preseason After 1st competition phase (CP) After 2nd CP 7 weeks post-season	Periods of high load: - $\uparrow$ GSSG (21.6–38.6 mmol/L). - $\downarrow$ GSH/GSSG ratio (18.8–28.9). Positive correlation of GSSG ($r = 0.65$), GSH/GSSG ratio ($r = 0.63$) with s-RPE.	Results show that during high-intensity training periods, handball players exhibit minor inflammation and oxidative stress. This highlights the value of closely monitoring psychological and biological markers related to inflammation, oxidative stress, and training load during the season.
Coad et al. (2015) [48]	11 elite male Australian Football League athletes. (Age: 21.8 ± 2.4 years; Height: 186.9 ± 7.9 cm; Mass: 87.4 ± 7.5 kg)	throughout 3 matches during the preseason that were separated by 7 days.	Matches	salivary immunoglobulin A concentration	Saliva samples were collected across each match 24 h and 1 h pre-match and 1, 12, 36, and 60 h post-match.	Across match 3, sIgA was significantly ($p < 0.01$) suppressed at 2 post-match measures (12 and 36 h) compared with pre-match measures (24 and 1 h), which coincided with significantly ($p < 0.01$) elevated player load.	The findings indicated that an increase in player load during the match resulted in compromised post-match mucosal immunological function.
Coad et al. (2016) [49]	18 elite male Australian Football League athletes. (Age: 24 ± 4.2 years; Height: 187.0 ± 7.1 cm; Mass: 87.0 ± 7.6 kg)	16 consecutive matches in an Australian Football League premiers season.	Matches	salivary immunoglobulin A concentration	A concentration (s-IgA) measured at 36 h postmatch throughout an Australian Football League.	Significant ($p < 0.05$) effects compared with baseline sIgA.	Matches may delay sIgA recovery beyond 36 h post-match for full recovery and may be at higher risk of illness during the initial 36 h post-match.
Cormack et al. (2008) [50]	15 elite Australian football League players (Age: 24.9 ± 2.4 years; Height: 1.87 ± 0.07 m; Weight: 88.0 ± 7.9 kg).	Before and during the 22-match season.	Matches and training	Cortisol (C) and Testosterone (T)	Initial data collected at rest approximately 36 h before the first match of the season and on 20 occasions throughout the 22-match season	Cortisol was substantially lower (up to $-40 \pm 14.1\%$, ES of -2.17 ± 0.56) than Pre in all but one comparison. Testosterone response was varied, whereas T/C increased substantially on 70% of occasions, with increases to $92.7 \pm 27.8\%$ (ES 2.03 ± 0.76).	Change in T/C indicates subjects were unlikely to have been in a catabolic state during the season. Increase in Cortisol compared with Pre had a small negative correlation with performance.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Cunniffe et al. (2011) [51]	31 professional rugby union players (Forwards: $n = 16$, Age: 26.8 ± 0.9 years; Weight: 112 ± 2.6 kg; Height: 188.3 ± 1.7 cm. Backs: $n = 14$, Age: 25.9 ± 0.9 years; Weight: 91 ± 2.0 kg; Height: 182.6 ± 2.4 cm).	48-week competitive season.	Training	Upper respiratory illness (URI), salivary immunoglobulin A (s-IgA), salivary lysozyme (s-Lys), and cortisol.	Weekly illness and TL data were collected during the season. Timed resting morning saliva samples were taken (s-IgA $n = 11$; s-cortisol ($n = 7$) across the season ($n = 48$ weeks).	No significant correlation found between absolute s-IgA or s-Lys concentrations and URI incidence. Peaks in URI were preceded by periods of increased training intensity and reduced game activity. Lower s-IgA ($p < 0.05$) and s-Lys concentrations were consistently observed in backs than forwards, whereas URI incidence also differed for player position (3.4 forwards vs. 4.3 backs). Decreases in absolute s-IgA (December) and s-Lys (November and February) concentrations were associated with a corresponding increase in saliva cortisol ($p < 0.05$).	Regular monitoring of s-IgA and s-Lys may be useful in assessing exercise stress and URI risk status in elite team sport athletes. Stress-induced increases in cortisol release are likely to contribute to reductions in mucosal immunity, predisposing rugby players to increased illness risk.
Horta et al. (2019) [52]	12 elite male volleyball players (Age: 26.9 ± 4.6 years; Body mass: 94.9 ± 11.6 kg; Height: 194.6 ± 8 cm).	A 6-week Short Preparatory Period	Preparatory training sessions	Creatine Kinase (CK), Testosterone (T), Cortisol (Cr), and T/Cr ratio.	Assessments at baseline, after 2nd, 4th, and 6th weeks.	Significant increases in training load and CK levels, indicating muscle damage ($r = 0.32$; $p = 0.05$) Psychological stress increased, as reflected in the Stress Questionnaire for Athletes (RESTQ-Sport) responses. No significant changes in T, Cr, and T/Cr ratio.	A short preparatory period led to increased training load, muscle damage, and psychological stress without a concurrent increase in physical performance.
Kamarauskas et al. (2023) [53]	21 professional male basketball players (age: 26.2 ± 4.9 years; height: 198.7 ± 6.7 cm; body mass: 93.2 ± 10.0 kg)	5 weeks Pre-season phase	Training and Matches	Testosterone (T), Cortisol (C), and their ratio (T/C)	Saliva samples were collected during an experimental day at the beginning of each week of the preseason phase	No significant ($p > 0.05$) relationships were evident between weekly changes in T, C, or T/C	These results suggest that internal load measures cannot be used to anticipate weekly hormonal responses during the pre-season phase in professional male basketball players.
Lindsay et al. (2015) [54]	24 professional rugby players (Age: 24.2 ± 2.9 years; Mass: 103.3 ± 11.6 kg; Height: 1.87 ± 0.06 m)	3 professional rugby games.	Matches	Myoglobin, salivary immunoglobulin A, cortisol, neopterin and total neopterin	Saliva samples were collected ~120 min pre-game and ~30–40 min post-game.	Post-game decrements ($p < 0.001$), sIgA decreases for game 2 ($p = 0.019$). Mean sIgA decreases following all games.	Significant decreases in sIgA concentration and secretion were observed for game 2. Post-game secretion rate is affected by pre-game rate and number of impacts.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Marin et al. (2013) [55]	10 professional handball players (Age: 25 ± 4.5 years; Mass: 95.3 ± 9.8 kg; Height: 187 ± 6.6 cm)	Over 6 months of competitive season, with evaluations every six weeks.	Matches and training	Oxidative stress and antioxidant biomarkers, muscle damage, biochemical parameters, antioxidant enzymatic activities, functional parameters of immune cells, production of superoxide anion, nitric oxide, and hydrogen peroxide.	Blood samples were collected four times every six weeks throughout the season. At each blood collection (T1–T4), samples were collected in the morning (10 a.m.)	Plasma TBARS: Increased significantly (4.4-fold post-T3, 3.2-fold post-4). Plasma Thiols: Marked decrease during intense periods. Erythrocyte TBARS: Transient rise, significant reduction by T4. Erythrocyte Antioxidant Enzymes: Dramatic increase (up to 14.7-fold for superoxide dismutase at T4). Creatine Kinase: 94% increase after T4, indicating muscle damage. Lactate Dehydrogenase: Decreased, then normalized. IL-1 β : Significant decrease post-T2. IL-6 and TNF- α : Stable levels. Lymphocyte Proliferation & Neutrophil Phagocytic Capacity: Notable fluctuations, 20% decrease in phagocytic capacity.	Oxidative stress and antioxidant biomarkers can change throughout the season in competitive athletes, reflecting the physical stress and muscle damage that occurs as the result of competitive handball training. In addition, these biochemical measurements can be applied in the physiological follow-up of athletes.
Martínez et al. (2010) [56]	12 professional basketball players (Age: 25.3 ± 4.4 years; Height: 1.98 ± 0.10 m; Weight: 96.8 ± 13 kg)	Preseason and season	Matches and training	Cortisol and Testosterone	At 4 time points: Preseason (T1) End of 2nd mesocycle (T2) King's Cup (T3) End of regular season and Eurocup (T4)	Catabolic/anabolic balance throughout the season: Decrease in cortisol levels at T2 and T4. Increase in T/C ratio at T2 and decrease at T3.	Increase in testosterone and decrease or maintenance of cortisol levels can contribute to effective recovery. Monitoring cortisol, testosterone, and training levels is useful to prevent stress and manage recovery periods during the season.
McLean et al. (2010) [30]	12 professional rugby league players (Age: 24.3 ± 3.6 years; Body mass: 101.9 ± 8.4 kg; Stature: 184.7 ± 6.1 cm)	During three different duration training weeks throughout a 26-week rugby league season.	Matches and training	Testosterone, Cortisol, and Testosterone/Cortisol ratio (T/C)	Saliva samples collected 4 h pre-match and 1, 2, and 4 days post-match in all three experimental weeks.	A significantly higher mean daily load was found in the 7-day ($p < 0.05$, $d = 0.45$) and 9-day ($p < 0.01$, $d = 0.59$) microcycles compared with the 5-day microcycle. Day 4 cortisol measures in the 9-day and 7-day microcycles were significantly higher than game day ($p < 0.01$, $d = 0.60$) and tended to be higher than day 1 measures, approaching significance ($p = 0.07$, $d = 0.69$).	The study highlights the complexity of using salivary hormones, especially testosterone and the T/C ratio, as reliable indicators of fatigue or anabolic/catabolic state in professional rugby players. Cortisol showed some correlation with training load and recovery, but its variability also suggests limitations in its use as a sole indicator of physiological stress or fatigue in this sporting context.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Miloski et al. (2016) [20]	Twelve male professional futsal players (24.3 ± 4.7 years old; 75.5 ± 7.7 kg; and 173.4 ± 4.5 cm)	Preseason and partially (midway) season	Training	Testosterone, Cortisol, and Testosterone/Cortisol ratio (T/C). CK	Every 2 weeks (preseason) and every 4 weeks (season)	Increase in CK ($266 \mu\text{L}$) and T/C ratio (2.0) at the end of preseason. Increase in cortisol ($+3.9 \text{ mg/dL}$) and decrease in T/C ratio (-0.5) from Blood samples 4 to Blood Samples 5	During the in-season, players kept their CK values stable without any loss in physical performance, suggesting that stable blood CK levels are a physiological feature of active futsal players. Seasonal hormonal data show futsal players effectively handled training and competition stress, as indicated by the stable T/C ratio without linked performance decline.
Mohr et al. (2016) [57]	40 competitive male soccer players (Age: 21.5 ± 0.3 years; Height: 1.77 ± 0.01 m; Weight: 73.4 ± 0.9 kg)	Congested 1-week study over 11 days, including baseline testing, three 90 min games, and 9 days of practice sessions and testing between and after games.	Matches and training	PC, NEFA, Urea, Ammonia, Glycerol, Adhesion molecule concentrations, CK GSH, GSSG, TBARS, CAT, Cortisol, Testosterone, Cytokines, CRP, TAC.	Venous blood samples collected every morning until the 3rd day after the final match. Additional samples before each match and 3–4 min after the end of the first and second half of each match for metabolite measurement.	Elevated levels of CK, CRP, and cortisol were noted 48 h post-games, with more significant increases following the second match. Oxidative stress markers such as TBARS and carbonylated proteins showed substantial increases post-games. The reduced/oxidized glutathione ratio declined during the first 24 h post-games	Inflammatory and oxidative stress responses to consecutive match microcycles indicate increased physiological stress and more pronounced fatigue after the second game, particularly due to the short three-day recovery period.
Moreira et al. (2009) [58]	22 male professional soccer players (Age: 23 ± 4 years; Height: 182 ± 6.8 cm; Body mass: 78.6 ± 8.4 kg).	During the competitive season.	Competitive training soccer match	Salivary cortisol concentrations	Subjects provided resting saliva samples approximately 10 min before the pre-session warm-up (PRE) and post-session saliva samples were collected within 10 min after the conclusion of the match (POST).	No significant changes in salivary cortisol concentrations ($p > 0.05$) were observed between teams or time points. Individual responses varied, showing both increases and decreases in cortisol levels.	The study indicates that a competitive soccer match does not significantly impact salivary cortisol levels in top-level professional soccer players adapted to this type of stress. Highlights the need for individual analysis due to response variability among players.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Moreira et al. (2013) [59]	12 elite Brazilian futsal players (age: 19 ± 1 years; height: 180 ± 4 cm; and body mass: 73 ± 7 kg).	4 weeks of intensive training during the competitive season with 27 training sessions performed.	Training	salivary immunoglobulin A, cortisol, and upper respiratory tract infection (URTI)	Salivary immunoglobulin A, salivary cortisol, and symptoms of URIs were assessed weekly.	No significant differences were observed for sIgA during the study ($p > 0.05$). The relative change in sIgA absolute was associated with the URTI severity during week 4 ($r = -0.74$; $p < 0.05$).	Futsal athletes were more susceptible to high URTI symptom severity in periods of higher training intensity and volume. A reduction in training load before competitions is an appropriate strategy to minimize URTI symptoms, ensuring the athlete's ability to train and compete.
Rowell et al. (2018) [60]	23 elite soccer players (Mean age: 23.3 ± 4.1 years; Height: 180 ± 10.0 cm; Weight: 75.7 ± 4.4 kg)	Competitive season with 34 matches (27 regular league and 7 Asian Champions League matches).	Matches	testosterone, and cortisol	Saliva collection before the last training session prior to match play, between 09:00 and 09:30 a.m., following strict pre-test procedures.	Position-specific responses to training loads. Center defenders showed a reduction in performance ratings with increased load, while strikers and wide midfielders tended to improve with increased load. Wide midfielders also showed increased testosterone levels with increased training load.	Increases in training load significantly affect hormonal levels, especially an increase in cortisol and testosterone in center defenders and changes in the testosterone/cortisol ratio.
Saidi et al. (2022) [61]	14 elite soccer players (Age: 20.9 ± 0.8 years; Height: 177 ± 5 cm; Weight: 72.4 ± 5.2 kg)	12 weeks (T1–T2: 6 regular weeks; T2–T3: 6 congested weeks)	Matches and training	CRP, CK, Creatinine	Evaluations at T1 (week 1), T2 (week 6), and T3 (week 12)	Significant increase in stress, fatigue, DOMS, and Hopper Index during congested period. Notable correlations between $\Delta\%$ of CRP, $\Delta\%$ of CK, Hopper Index, and $\Delta\%$ of fatigue	Increases in biochemical markers and changes in well-being during congested periods indicate a direct relationship with training load. Monitoring these parameters is vital to prevent overtraining and optimize performance
Schelling et al. (2009) [62]	Male professional basketball team (27.8 ± 4.8 years; 97 ± 9.5 kg; 197.2 ± 7.3 cm)	During the competitive season	Matches and training	Testosterone, Cortisol, and Testosterone/Cortisol ratio (T/C).	4–6 weeks (8 Samples)	Increase in cortisol in preseason (+33%) and maintained throughout the season ($0.393\text{--}0.516$ mmol/L). Increase of testosterone after 3.5 days of rest and decrease at the end of the season ($20.6\text{--}24.9$ vs. 18.0 mmol/L). T/C ratio decreases at the end of the season ($48.0\text{--}61.7$ vs. 35.4).	The T/C ratio and/or testosterone could be used as an indicator of the state of be used as indicators of recovery status and help to optimize individualized individualized training loads to avoid episodes of excessive fatigue.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Schelling et al. (2015) [63]	20 professional male basketball players	Four consecutive seasons	Regular season matches and training	Blood plasma total testosterone (TT) and cortisol (C) levels, testosterone-to-cortisol ratio (TT/C).	Blood samples were collected periodically every 4–6 weeks. Always after a 24- to 36-h break after the last game played.	Hormonal levels in professional basketball players were found to be position-dependent. Power forwards (PF) showed the lowest total testosterone (TT) levels (median 18.1 ± 4.9 nmol/L), while small forwards had the highest cortisol levels (0.55 ± 0.118 mmol/L). Players with 13–25 min of game time per match exhibited the highest TT (22.8 ± 6.9 nmol/L) and TT/C ratios (47.1 ± 21.2). The most stressed hormonal state, characterized by low TT/C and high cortisol levels, was observed in March and April, highlighting the need for tailored management based on playing time and position.	Monitoring plasma TT and cortisol is crucial for managing stress induced by the demands of a professional basketball season. Hormonal status varies according to playing position and game time, impacting training and recovery strategies.
Souglis et al. (2015) [64]	72 elite male players from four team sports (soccer, basketball, volleyball, handball).	Start of the regular season.	Matches.	TNF α , IL-6, CRP, CK, LDH, Urea, Ammonia, Cortisol	Pre, post, 13 h, and 37 h after the match.	Soccer showed the highest increase in inflammatory cytokines and muscle damage markers. Volleyball showed the least increase compared to the other three sports.	Professional soccer matches impose higher metabolic demands and cause greater inflammatory responses and muscle damage compared to handball, basketball, and volleyball.
Spanidis et al. (2016) [65]	14 adult male basketball players (age, 26.8 ± 1.2 years; height, 1.99 ± 0.02 m; weight, 101.6 ± 2.63 kg)	Internal Season	Regular season matches and training.	Markers of oxidative stress (TAC, TBARS, GSH, CARB, and sORP)	Beginning and end of season	Increase in sORP values (200 vs. 220 mV; 9.6%) and TAC (0.8 vs. 1.0 mmol/L; 12.9%) at the end of the season. Decrease in GSH (3.7 vs. 2.5 mmol/g; 35%) at the end of the season. Large inter-individual variation in TBARS, CARB of TBARS, CARB, TAC. High correlation between sORP and CARB ($r = 0.798$).	The sORP can help to monitor the redox status of a group of athletes, with higher greater completeness than TAC. An individualized examination of the redox status through TBARS, CARB, and TAC is required to identify critical recovery periods for each athlete.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Springham et al. (2021) [66]	18 senior professional male soccer players (Age: 24 ± 3.8 years; Height: 181 ± 7.0 cm; Body mass: 72.4 ± 5.2 kg).	A 6-week preseason and a 40-week season, divided into eight 5-week mesocycles.	Regular season matches and training.	Salivary immunoglobulin-A (s-IgA), α -amylase (s-AA), testosterone (s-T), cortisol (s-C), and testosterone/cortisol ratio (s-T/C); Athlete Self-Report Measures (ASRM) including fatigue, sleep quality, and muscle soreness.	Bi-weekly collection following recovery days	The study found small reductions in salivary immunoglobulin-A ($p = 0.003$), α -amylase ($p = 0.047$), and cortisol ($p = 0.007$), with trivial changes in testosterone. The testosterone/cortisol ratio varied inversely with workload. Self-reported fatigue, sleep quality, and muscle soreness improved across the season's first half ($p = 0.030$ to $p = 0.005$, small effect). Hormonal changes correlated with self-reports ($R^2 = 0.43$ to 0.45), with cortisol linked to worse and testosterone/cortisol to better reports. Non-linear relationships were found between some hormones and self-reports, indicating optimal levels for best responses.	Chronic suppression of mucosal immunity was observed. Salivary measures related to self-report measures, indicating the need for reduced workload to improve wellbeing. Monitoring s-IgA, s-T, s-C, and s-T/C can be effective in assessing players' health and performance status.
Talaei et al. (2017) [67]	15 elite male basketball players (Age: 24 ± 1.5 years; weight: 83 ± 3.3 kg; height: 188 ± 6.1 cm)	6 weeks	Combined training	RBC, Hb, Hct, MCV, MCH, WBC, PLT, MCHC	Pre-, post-, and 24 h after training	Significant increase in white blood cell and platelet counts at two stages; post-training and 24 h after recovery. Hemoglobin, hematocrit, and red blood cell count significantly decreased after 24 h of recovery.	Combined training plays a significant role in physiological and hematological adaptation processes, enhancing athletic performance. Prescribing this training method should be coupled with regular blood biochemical monitoring to balance exercise stress and recovery strategies.
Tiernan et al. (2020) [68]	19 male elite rugby union players.	over a 10-week training period	Training	Upper respiratory illness (URI), salivary immunoglobulin A (s-IgA)	Saliva samples were collected twice a week, Monday and Friday, within 1 h of the players waking up before training.	No significant differences in weekly sIgA levels were found over the 10-week period. The likelihood of suffering from a URTI increased when sIgA significantly decreased ($p = 0.046$).	A decrease in >65% of sIgA meant players were at risk within the following 2 weeks of contracting a URTI.

Table 2. Cont.

Study	Sample	Period	Type	Test	Frequency of Tests	Results	Conclusions
Twist et al. (2012) [69]	23 male rugby league players. Players were categorized as backs ($n = 10$; age 25.9 ± 5.1 years; stature 1.82 ± 0.08 m; body mass 91.9 ± 11.6 kg) or forwards ($n = 13$; age 26.0 ± 4.1 years; stature 1.83 ± 0.06 m; body mass 102.0 ± 6.7 kg)	European Rugby League Super League season	Matches	Creatine Kinase (CK)	Assessments conducted pre-match, one day after (day 1), and two days after the match (day 2).	Creatine kinase was higher both 1 and 2 days after than before matches ($p < 0.05$) in forwards and backs.	Despite the mechanisms of fatigue being different between forwards and backs, our results highlight the multidimensional nature of fatigue after a rugby league match and that markers do not differ between positions.

Note: AOPP (Advanced Oxidation Protein Products), ASRM (Athlete Self-Report Measures), CARB (Protein Carbonyls), CAT (Catalase Activity), CK (Creatine Kinase), CRP (Plasma C-Reactive Protein), Cortisol (C), Doms (Delayed Onset of Muscle Soreness), GSH (Reduced Glutathione), GSSG (Oxidized Glutathione), HB (Hemoglobin), Hct (Hematocrit), IL-6 (Interleukin-6), IMA (Ischemia Modified Albumin), LDH (Lactate Dehydrogenase), MCH (Cell Hemoglobin), MCHC (Mean Red Cell Hemoglobin Concentration), MCV (Mean Red Cell Volume), NEFA (Non-Esterified Fatty Acids), PC (Protein Carbonyls), PLT (Blood Platelets), PF (Power Forwards), RBC (Red Blood Cells), s-IgA (Salivary Immunoglobulin-A), TAC (Total Antioxidant Capacity), TBARS (Thiobarbituric Acid-Reactive Substances), TL (Training Load), TNF α (Tumor Necrosis Factor- α), T (Testosterone), T/C (Testosterone/Cortisol Ratio), TT (Blood Plasma Total Testosterone), URI (Upper Respiratory Illness), WBC (White Blood Cell), hs-CRP (High-Sensitivity C-Reactive Protein), s-AA (α -Amylase), s-C (Salivary Cortisol Concentrations), s-Lys (Salivary Lysozyme), and sORP (Static Oxidation-Reduction Potential Marker).

4. Discussion

This study aimed to systematize and analyze the existing scientific evidence on the primary biomarkers most frequently used in professional team athletes to detect the fatigue induced by the physical demands of professional training and competition. This physical and physiological stress is a direct response to exercise that can be experienced during both training and competition and leads to elevated levels of fatigue [38]. The multifactorial and complex nature of fatigue necessitates a comprehensive analysis of various biomarkers, as summarized in Table 3. This table provides an overview of the key biomarker categories, including muscle anabolic/catabolic hormones, muscle damage markers, immunological markers, oxidative stress markers, and inflammatory markers, along with their relevance to chronic fatigue assessment and typical measurement methods. By examining these diverse biomarkers, we can gain a more holistic understanding of the physiological responses to training and competition loads. This rigorous examination is vital to ascertain the extent of athletes' physiological adaptation, effectively curtailing the risks associated with non-functional overtraining, injury, or disease linked to prolonged fatigue accumulation [2]. The analysis of these biomarkers, in conjunction with workload data, provides a more comprehensive approach to monitoring and managing athlete fatigue in professional team sports [2].

Table 3. Summary of key biomarkers for chronic fatigue assessment in professional team sport athletes.

Biomarker Category	Specific Biomarkers	Relevance to Chronic Fatigue	Typical Measurement Method
<i>Muscle anabolic/catabolic hormones</i>	Testosterone, Cortisol, Testosterone/Cortisol ratio	Reflect metabolic strain and stress responses to training/competition loads	Blood or saliva samples; ELISA or radioimmunoassay
<i>Muscle damage markers</i>	Creatine Kinase (CK), Lactate Dehydrogenase (LDH)	Quantify extent of exercise-induced muscle damage	Blood samples; Spectrophotometry
<i>Immunological markers</i>	Salivary Immunoglobulin A (s-IgA), Immune cell function	Indicate mucosal immunity status and potential vulnerability to upper respiratory tract infections	Saliva samples; ELISA
<i>Oxidative stress markers</i>	Reactive Oxygen Species, Antioxidant Capacity, TBARS, Protein Carbonyls	Assess cellular stress and redox balance	Blood samples; Spectrophotometry, ELISA
<i>Inflammatory markers</i>	C-Reactive Protein (CRP), Cytokines (e.g., IL-6, TNF- α)	Indicate systemic inflammatory responses to prolonged intense training	Blood samples; ELISA, Flow cytometry

Note. ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; TBARS: Thiobarbituric Acid Reactive Substances; IL-6: Interleukin-6; TNF- α : Tumor Necrosis Factor-alpha.

4.1. Hormonal Markers

The relationship between hormonal markers and training/competition loads was evaluated in 15 of the included studies [30,45,46,50,52,53,55,57,58,60,63,64,66,70,71]. Regarding the impact of training load (TL) and competition loads (CL) on hormonal responses, all studies included in this review show significant alterations in testosterone, cortisol, and the testosterone/cortisol ratio in response to changes in external and internal TL/CL across the season. These hormonal perturbations provide useful information for athlete-monitoring purposes to detect dysfunctional physiological responses. Emphasizing the practical significance of these findings, the T/C ratio has emerged as a particularly sensitive marker in gauging training stress and fatigue levels. A study performed on rugby players indicated that only cortisol levels present limitations as a physiological stress biomarker due to their variability, indicating that the combination with testosterone values provides a more reliable index [30]. In this way, Schelling et al. [63] obtained that the hormonal status varies

according to playing position and game time, impacting training and recovery strategies. The diversity in findings, as collated in a recent systematic review by Moreno-Villanueva et al. [37], corroborates earlier hypotheses about the variability of T, C, and T/C marker values [20,30,62,63]. This variability is contingent on the period under analysis and the specific sporting discipline. While some researchers advocate for the use of T and C as individual indicators of fatigue in team sports [20], the complexity inherent in the hormonal response necessitates a broader investigation into the interplay between these hormones, particularly through the lens of the T/C ratio. This approach allows for a nuanced and comprehensive interpretation of the data, shedding light on the balance between anabolic and catabolic processes. However, it is crucial to acknowledge that these hormonal parameters should not be isolated in their interpretation. This observation facilitates the precise calibration of training regimens through the utilization of hormonal biomarker data, with the objective of achieving optimal performance enhancement. Therefore, appropriately adjusting training and recovery programs based on hormonal biomarker data can aid performance optimization.

4.2. Muscular Damage Markers

Substantial research evidences the pattern of consistent CK elevation post-exercise that induces fatigue and muscle damage [72–75]. Our review corroborates this, indicating notable sustained elevations in CK levels [20,44,45,52,55,57,61,64,69]. However, several aspects merit consideration in the interpretation of our data. Primarily, prior studies have revealed considerable day-to-day fluctuations in CK levels [45,57,64,69]. These findings are further supported by other studies [76,77], which also observed an approximate change of around 26–27%, respectively, with the smallest worthwhile change (SWC) in CK identified at 8.6% [76]. Ideally, the smallest worthwhile change (SWC) should be less than the coefficient of variation for effective sensitivity. However, based on the results of the indexed studies [45,57,64,69], the post-match increases were significantly greater ($p < 0.05$) than the athletes' coefficients of variation, with a significant increase ($p < 0.05$) in CK levels compared to the average baseline level at 24, 48, and 72 h. Therefore, it appears that the use of CK as an indicator of muscle damage is a sensitive tool for detecting the acute load borne by athletes [45,57,64,69,76,77].

Although it is undeniable that CK levels rise following intense exercise, its effectiveness as a measure to monitor an athlete's chronic load seems to be less reliable [20]. Nonetheless, the study reported by Barcelos et al. [44] and Marin et al. [55] demonstrates how CK and Lactate Dehydrogenase (LDH) can be a sensitive tool for detecting changes in muscle damage levels over the preseason and season. Discrepancies among study results can be explained by several factors [20,44,55]: it is important to note how much time elapsed since the last training or match for CK measurements because if measurements are taken within the first 78 h, CK levels after an intense match or training will be significantly higher than baseline. However, after these 78 h, CK levels are less effective in detecting muscle damage as shown in the study by Birdsey et al. [45], with the highest blood CK levels recorded at 24–48 h after a training session or match in professional athletes [45,57,64,69]. Another consideration is the circadian fluctuation of CK; under typical resting conditions, CK concentrations peak in the morning [78], which can influence the timing of measurement. In our review, sampling times varied greatly; however, it is likely that the substantial increases in CK after training or matches (24–72 h) overshadow this variation [45,57,64,69]. Finally, it is important to highlight at what point in the season CK and LDH samples were taken. While the study reported by Miloski et al. [20] showed no significant differences in blood CK during the season, it did reveal significant changes ($p < 0.05$) in CK (266 μL) during the preseason when the training load was higher. Similar results were shown in the studies by Barcelos et al. [44] and Marin et al. [55], where significant differences in CK and LDH were found when there was a significant reduction in training load as a strategy to improve team performance [44] and during periods of match congestion and intensity such as the playoff season [45,52,55,57,61].

In this context, CK appears to be a sensitive marker for detecting muscle damage in professional athletes. It is essential to consider that CK levels undergo circadian fluctuations, generally being higher in the morning. This should be taken into account when assessing CK levels for accurate results. Moreover, this enzyme shows greater sensitivity 72 h post-training or competition, reaching its peak between 24 and 48 h after intense physical activity [45,57,64,69]. Therefore, measuring CK levels during these periods can provide valuable information about an athlete's muscular state. Additionally, CK and LDH can be a useful indicator for monitoring variations in physical state during the season, especially during periods of congested matches or a decrease in training and/or match load. This tool enables coaches and athletes to adjust their training and recovery programs more effectively, minimizing injury risk and optimizing performance.

4.3. Immunological Markers

s-IgA has emerged as a pivotal biomarker for evaluating overtraining, psychological stress, and the health status of the upper respiratory tract, as underscored in seminal research [79]. s-IgA predominantly functions as a barrier against viral infections, obstructing the adherence of pathogens to the mucosal epithelium of the upper respiratory tract, a mechanism well-documented in the work of Rico-González et al. [79]. Notably, an escalation in training intensity can precipitate a decline in s-IgA levels, augmenting the vulnerability to upper respiratory tract infections (URTI), as elucidated in various studies [80]. This systematic review scrutinizes eight studies that investigated s-IgA responses to structured training and competitive engagements. These studies delve into the dynamics of s-IgA and other immunological markers (salivary lysozyme, neopterin, and total neopterin) under varying training modalities, encompassing periodization, overload, tapering, and preparatory phases [46,48,49,51,54,59,66,68].

A subset of the reviewed literature established correlations between s-IgA concentrations and URTI prevalence [51,59,68]. Moreira et al. [59] conducted a nuanced analysis over a four-week intensive training period, hypothesizing and confirming a negative correlation between escalated training loads and s-IgA levels, with a concomitant increase in URTI symptoms, particularly pronounced in the final week. This finding highlights the susceptibility of athletes with reduced s-IgA to URTI risks. Complementarily, another study identified a low s-IgA secretion rate as a risk factor for URTI [81], while also noting the contribution of heightened training load and intensity to URTI incidence [81,82]. Further corroborating this, the study by Tiernan et al. [68] demonstrated that a reduction of $\geq 65\%$ in s-IgA levels significantly escalated the risk of URTI in the ensuing two weeks. On the other hand, another study [51] reported no substantial correlations between absolute s-IgA or salivary lysozyme (s-Lys) levels and URI incidence. However, they observed a trend of lower s-IgA concentrations in players with higher URTI instances compared to asymptomatic players, indicating a potential association between diminished s-IgA levels and elevated URTI risk. Notably, the study also revealed position-specific variations in s-IgA and s-Lys levels, and URI incidence, underscoring the importance of maintaining optimal s-IgA levels to mitigate URTI risks.

Another salient outcome from this systematic review is the association between increased training loads and decreased s-IgA levels. As Botonis and Toubekis [46] proposed, assessing s-IgA concentrations can be instrumental in identifying excessive training workloads and determining URTI risk among professional athletes. The investigation by Tiernan et al. [68] aimed to explore the relationship between s-IgA levels and training load, hypothesizing an inverse relationship. Although no significant associations were found ($p < 0.005$), the study observed a marked increase in training load preceding the decrease in s-IgA levels, suggesting that appropriate training load management and sufficient recovery might mitigate the decline in s-IgA [83]. Lindsay et al. [54] also found a correlation between s-IgA, neopterin, and total neopterin secretion rates and player load. These findings, along with other studies included in this review, indicate that reductions in s-IgA are associated with increased training intensity/volume and congested schedules [48,49,66]. Longitudinal

monitoring of training/match loads and mucosal immune function during initial recovery phases can significantly enhance athlete preparation and well-being management strategies. Chronic suppression of salivary mucosal immunity, therefore, can serve as an indicator for necessary workload adjustments to foster athlete well-being.

4.4. Inflammatory Markers and Oxidative Stress Markers

The accumulated scientific evidence indicates that periods of fixture congestion coupled with limited recovery results in cumulative match fatigue and amplified physiological strain. This is reflected in unresolved perturbations in inflammatory and oxidative stress biomarkers across successive competitions [44,47,57,61–63,66,68]. For example, one study on professional soccer players reported the highest increases in inflammatory cytokines like TNF α and IL-6 along with muscle damage markers like CK and LDH compared to other sports over a regular season [64]. Similarly, consecutive soccer matches over a 1-week period resulted in continually elevated levels of CRP, CK, cortisol, and oxidative stress markers, which showed more pronounced increases after the second match, indicating increased physiological stress and fatigue due to limited recovery between matches [57].

This trend of unsustained inflammation resulting from insufficient recovery periods between matches is corroborated by other soccer studies as well [55,61]. Elite basketball over a 6-month season [65] and professional handball across a 12-week period [47] also exhibited increases in oxidative stress (e.g., $\uparrow$ GSSG, $\downarrow$ GSH/GSSG ratio by 18–35%) during intensive phases along with mild perturbations in inflammation. Greater perturbations were noted in muscle damage (CK) and oxidative stress (TBARS) in sports with higher eccentric loads like handball and basketball vs. volleyball [64]. These highlights varied biochemical demands between sports. Nonetheless, continuous travel and competition without complete inflammatory and redox resolution can heighten injury risk [44,55,61].

Specifically, unabated oxidation can impair muscle contractility and damage cell membranes [66]. Moreover, lingering inflammation can exacerbate muscle damage and slow regeneration between matches [79]. As an example, elevated CRP levels post-match significantly correlated with increases in creatine kinase levels 24 h later in elite soccer players [61]. This illustrates the mechanistic interplay between inflammation and secondary muscle damage. Accordingly, continual biochemical monitoring is vital for balancing stress and recovery, especially for sports involving recurrent high-intensity efforts like soccer, basketball, and handball across congested fixture schedules [47,57]. Regular blood draws can enable training load adjustments to calibrate external and internal loads [2]. This helps stimulate targeted physiological adaptations while mitigating the risk of illness, overtraining, and injury during intensive in-season phases—especially under fixture congestion [35,46].

4.5. Sex Differences in Chronic Fatigue Monitoring

While this review focused on male professional team athletes, it is important to acknowledge that sex differences play a significant role in chronic fatigue development, manifestation, and monitoring. These differences stem from physiological, hormonal, and metabolic variations between males and females, which can affect biomarker responses and interpretation [2,24].

One of the primary considerations in female athletes is the influence of the menstrual cycle on fatigue and recovery processes. Hormonal fluctuations throughout the menstrual cycle can impact exercise performance, substrate utilization, and recovery capacity [84]. For instance, estrogen has been shown to have a protective effect against exercise-induced muscle damage, potentially leading to different creatine kinase responses in females compared to males [85]. Testosterone, a key biomarker in our review, exhibits significantly different baseline levels and exercise-induced changes between sexes. While both males and females show acute increases in testosterone following intense exercise, the magnitude of change is typically larger in males [63]. This difference necessitates sex-specific reference ranges and potentially different interpretations of the testosterone/cortisol ratio as a marker of anabolic/catabolic balance [55,63].

Inflammatory responses to exercise also show sexual dimorphism. Some studies have reported that females exhibit a different pattern of inflammatory response following exercise, with potentially different patterns of cytokine release compared to males [86]. This could affect the interpretation of inflammatory markers such as IL-6 and TNF- α in the context of chronic fatigue monitoring. Oxidative stress responses to exercise may also differ between sexes, with some research suggesting that females may have different antioxidant responses compared to males [66]. This could influence the interpretation of oxidative stress markers in fatigue-monitoring protocols. Additionally, differences in muscle fiber composition and metabolism between males and females [87] may affect the accumulation of fatigue and the time course of recovery, potentially necessitating different monitoring strategies and interpretations of biomarker data.

These sex-based differences highlight the need for careful consideration when applying fatigue monitoring protocols developed primarily in male populations to female athletes. Establishing sex-specific reference ranges for key fatigue biomarkers and investigating whether different monitoring strategies are needed for male and female athletes in team sports is necessary [2,24].

4.6. Limitations and Future Research Directions

This systematic review has some limitations that should be acknowledged. First, the included studies varied considerably in their methodologies, sample sizes, and specific biomarkers examined, which limited direct comparisons in some cases. Additionally, most studies focused on male athletes, with limited data on female athletes. The review was also restricted to team sports, potentially limiting generalizability to individual sports. Future research should address these gaps by conducting more studies on female athletes and expanding to a wider range of sports. Longitudinal studies tracking biomarker responses across multiple seasons would provide valuable insights into long-term adaptations. There is also a need for more research examining the interactions between multiple biomarkers simultaneously, as well as investigating newer, potentially more sensitive biomarkers. Future studies should aim to establish sport-specific and position-specific reference ranges for key biomarkers to enhance interpretation. Finally, research integrating biomarker data with other monitoring tools like GPS metrics, subjective wellness measures, and performance indicators would provide a more comprehensive understanding of athlete fatigue and recovery processes. Such holistic approaches could lead to more individualized and effective load management strategies in elite team sports.

5. Conclusions

This systematic review provides a comprehensive synthesis of the scientific literature on the biochemical monitoring of fatigue in male professional team athletes. The evidence conclusively demonstrates that the high physiological loads imposed by intensive training and match congestion elicit significant alterations in all assessed biomarkers. These indicate measurable muscle damage, oxidative stress, inflammation, immunosuppression, and hormonal strain. Moreover, changes are consistently larger after official matches relative to regular training across sports. Reported recovery kinetics range widely from 24 h to several days post-exercise depending on context.

Overall, this review highlights the utility of frequent biochemical monitoring to quantify biochemical aspects of fatigue alongside sports performance assessments in high-level athletes. This enables coaches to calibrate training stimulus and recovery to stimulate optimal adaptation at the individual level while mitigating injury, illness, and overtraining risks. A key insight is the crucial need for holistic monitoring strategies encompassing both physiological and perceptual indicators of fatigue and the adaptive state. This allows for adjusting external and internal loads to augment performance across a season. Further research should address the impact of psychological stressors alongside physical load metrics for a more complete perspective, particularly on the inflation of baseline biomarker levels as an additional technical error. Nonetheless, this review re-emphasizes

biomarker assessment as an invaluable tool for training load management and performance optimization in high-performance sports programs.

Author Contributions: Conceptualization, A.S.-L. and J.P.-O.; methodology, A.S.-L. and A.M.-V.; software, C.D.G.-C. and J.P.-O.; validation, A.M.-V. and J.P.-O.; formal analysis, A.S.-L. and C.D.G.-C.; investigation, A.S.-L. and A.M.-V.; resources, J.P.-O.; data curation, A.S.-L. and C.D.G.-C.; writing—original draft preparation, A.S.-L. and C.D.G.-C.; writing—review and editing, A.M.-V. and J.P.-O.; visualization, C.D.G.-C. and A.M.-V.; supervision, J.P.-O.; project administration, J.P.-O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Borresen, J.; Lambert, M.I. The Quantification of Training Load, the Training Response and the Effect on Performance. *Sports Med.* **2009**, *39*, 779–795. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Halson, S.L. Monitoring Training Load to Understand Fatigue in Athletes. *Sports Med.* **2014**, *44* (Suppl. 2), S139–S147. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Jaspers, A.; Brink, M.S.; Probst, S.G.M.; Frencken, W.G.P.; Helsen, W.F. Relationships Between Training Load Indicators and Training Outcomes in Professional Soccer. *Sports Med.* **2017**, *47*, 533–544. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Gamble, P. Periodization of Training for Team Sports Athletes. *Strength Cond. J.* **2006**, *28*, 56–66. [[CrossRef](#)]
5. Issurin, V.B. New Horizons for the Methodology and Physiology of Training Periodization. *Sports Med.* **2010**, *40*, 189–206. [[CrossRef](#)]
6. Impellizzeri, F.M.; Rampinini, E.; Coutts, A.J.; Sassi, A.; Marcora, S.M. Use of RPE-Based Training Load in Soccer. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2004**, *36*, 1042–1047. [[CrossRef](#)]
7. Mroczek, D.; Januszkiewicz, A.; Kawczyński, A.S.; Borysiuk, Z.; Chmura, J. Analysis of Male Volleyball Players' Motor Activities during a Top Level Match. *J. Strength Cond. Res.* **2014**, *28*, 2297–2305. [[CrossRef](#)]
8. Aubert, A.E.; Seps, B.; Beckers, F. Heart Rate Variability in Athletes. *Sports Med.* **2003**, *33*, 889–919. [[CrossRef](#)]
9. Jiménez Morgan, S.; Molina Mora, J.A. Effect of Heart Rate Variability Biofeedback on Sport Performance, a Systematic Review. *Appl. Psychophysiol. Biofeedback* **2017**, *42*, 235–245. [[CrossRef](#)]
10. Haddad, M.; Stylianides, G.; Djaoui, L.; Dellal, A.; Chamari, K. Session-RPE Method for Training Load Monitoring: Validity, Ecological Usefulness, and Influencing Factors. *Front. Neurosci.* **2017**, *11*, 612. [[CrossRef](#)]
11. García-Ramos, A.; Torrejón, A.; Feriche, B.; Morales-Artacho, A.J.; Pérez-Castilla, A.; Padial, P.; Haff, G.G. Prediction of the Maximum Number of Repetitions and Repetitions in Reserve From Barbell Velocity. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2018**, *13*, 353–359. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Haff, G.G.; Nimphius, S. Training Principles for Power. *Strength Cond. J.* **2012**, *34*, 2. [[CrossRef](#)]
13. Sánchez-Medina, L.; González-Badillo, J.J. Velocity Loss as an Indicator of Neuromuscular Fatigue during Resistance Training. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2011**, *43*, 1725–1734. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Ehrmann, F.E.; Duncan, C.S.; Sindhusake, D.; Franzsen, W.N.; Greene, D.A. GPS and Injury Prevention in Professional Soccer. *J. Strength Cond. Res.* **2016**, *30*, 360–367. [[CrossRef](#)]
15. Díaz-Soto, F.J.; Rico-González, M.; Palucci Vieira, L.H.; Clemente, F.M.; Nobari, H.; Pino-Ortega, J. A Systematic Review of Velocity and Accelerometer Thresholds in Soccer. *Int. J. Sports Sci. Coach.* **2023**, *18*, 1768–1781. [[CrossRef](#)]
16. Rowsell, G.J.; Coutts, A.J.; Reaburn, P.; Hill-Haas, S. Effects of Cold-Water Immersion on Physical Performance between Successive Matches in High-Performance Junior Male Soccer Players. *J. Sports Sci.* **2009**, *27*, 565–573. [[CrossRef](#)]
17. Coutts, A.; Reaburn, P.; Piva, T.J.; Murphy, A. Changes in Selected Biochemical, Muscular Strength, Power, and Endurance Measures during Deliberate Overreaching and Tapering in Rugby League Players. *Int. J. Sports Med.* **2007**, *28*, 116–124. [[CrossRef](#)]
18. Córdova, A.; Sureda, A.; Tur, J.A.; Pons, A. Immune Response to Exercise in Elite Sportsmen during the Competitive Season. *J. Physiol. Biochem.* **2010**, *66*, 1–6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Kelly, V.G.; Coutts, A.J. Planning and Monitoring Training Loads during the Competition Phase in Team Sports. *Strength Cond. J.* **2007**, *29*, 32–37. [[CrossRef](#)]
20. Miloski, B.; de Freitas, V.H.; Nakamura, F.Y.; de A Nogueira, F.C.; Bara-Filho, M.G. Seasonal Training Load Distribution of Professional Futsal Players: Effects on Physical Fitness, Muscle Damage and Hormonal Status. *J. Strength Cond. Res.* **2016**, *30*, 1525–1533. [[CrossRef](#)]

21. Moreira, A.; Freitas, C.G.; Nakamura, F.Y.; Drago, G.; Drago, M.; Aoki, M.S. Effect of Match Importance on Salivary Cortisol and Immunoglobulin A Responses in Elite Young Volleyball Players. *J. Strength Cond. Res.* **2013**, *27*, 202–207. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Palao, J.M.; Manzanares, P.; Valadés, D. Anthropometric, Physical, and Age Differences by the Player Position and the Performance Level in Volleyball. *J. Hum. Kinet.* **2014**, *44*, 223–236. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Freitas, V.H.; Nakamura, F.Y.; Miloski, B.; Samulski, D.; Bara-Filho, M.G. Sensitivity of Physiological and Psychological Markers to Training Load Intensification in Volleyball Players. *J. Sports Sci. Med.* **2014**, *13*, 571–579. [\[PubMed\]](#)
24. Saw, A.E.; Main, L.C.; Gastin, P.B. Monitoring the Athlete Training Response: Subjective Self-Reported Measures Trump Commonly Used Objective Measures: A Systematic Review. *Br. J. Sports Med.* **2016**, *50*, 281–291. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Filaire, E.; Bernain, X.; Sagnol, M.; Lac, G. Preliminary Results on Mood State, Salivary Testosterone: Cortisol Ratio and Team Performance in a Professional Soccer Team. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2001**, *86*, 179–184. [\[CrossRef\]](#)
26. Fragala, M.S.; Kraemer, W.J.; Denegar, C.R.; Maresh, C.M.; Mastro, A.M.; Volek, J.S. Neuroendocrine-Immune Interactions and Responses to Exercise. *Sports Med.* **2011**, *41*, 621–639. [\[CrossRef\]](#)
27. Maso, F.; Lac, G.; Filaire, E.; Michaux, O.; Robert, A. Salivary Testosterone and Cortisol in Rugby Players: Correlation with Psychological Overtraining Items. *Br. J. Sports Med.* **2004**, *38*, 260–263. [\[CrossRef\]](#)
28. Papacosta, E.; Nassis, G.P. Saliva as a Tool for Monitoring Steroid, Peptide and Immune Markers in Sport and Exercise Science. *J. Sci. Med. Sport* **2011**, *14*, 424–434. [\[CrossRef\]](#)
29. Owen, A.L.; Wong, D.P.; Dunlop, G.; Groussard, C.; Kebisi, W.; Dellal, A.; Morgans, R.; Zouhal, H. High-Intensity Training and Salivary Immunoglobulin A Responses in Professional Top-Level Soccer Players: Effect of Training Intensity. *J. Strength Cond. Res.* **2016**, *30*, 2460–2469. [\[CrossRef\]](#)
30. McLean, B.D.; Coutts, A.J.; Kelly, V.; McGuigan, M.R.; Cormack, S.J. Neuromuscular, Endocrine, and Perceptual Fatigue Responses During Different Length Between-Match Microcycles in Professional Rugby League Players. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2010**, *5*, 367–383. [\[CrossRef\]](#)
31. Moreira, A.; Mortatti, A.L.; Arruda, A.F.S.; Freitas, C.G.; de Arruda, M.; Aoki, M.S. Salivary IgA Response and Upper Respiratory Tract Infection Symptoms during a 21-Week Competitive Season in Young Soccer Players. *J. Strength Cond. Res.* **2014**, *28*, 467–473. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Dunbar, J.; Armitage, M.; Jehanli, A.; Browne, A. Mucosal Immunity and Self-Reported Upper Respiratory Symptoms in a Cohort of Premier League Academy Soccer Players. *Int. J. Exerc. Sci. Conf. Proc.* **2013**, *10*, 45.
33. Clemente, F.M.; Mendes, B.; Bredt, S.d.G.T.; Praça, G.M.; Silvério, A.; Carriço, S.; Duarte, E. Perceived Training Load, Muscle Soreness, Stress, Fatigue, and Sleep Quality in Professional Basketball: A Full Season Study. *J. Hum. Kinet.* **2019**, *67*, 199–207. [\[CrossRef\]](#)
34. Hagstrom, A.D.; Shorter, K.A. Creatine Kinase, Neuromuscular Fatigue, and the Contact Codes of Football: A Systematic Review and Meta-Analysis of Pre- and Post-Match Differences. *Eur. J. Sport Sci.* **2018**, *18*, 1234–1244. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Miguel, M.; Oliveira, R.; Loureiro, N.; García-Rubio, J.; Ibáñez, S.J. Load Measures in Training/Match Monitoring in Soccer: A Systematic Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 2721. [\[CrossRef\]](#)
36. Teixeira, J.E.; Forte, P.; Ferraz, R.; Leal, M.; Ribeiro, J.; Silva, A.J.; Barbosa, T.M.; Monteiro, A.M. Monitoring Accumulated Training and Match Load in Football: A Systematic Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 3906. [\[CrossRef\]](#)
37. Moreno-Villanueva, A.; Rico-González, M.; Pino-Ortega, J. Monitoring of Internal and External Loads to Interpret Acute and Chronic Fatigue in Indoor Team Sports: A Systematic Review. *Int. J. Sports Sci. Coach.* **2022**, *17*, 1531–1552. [\[CrossRef\]](#)
38. Doeven, S.H.; Brink, M.S.; Kosse, S.J.; Lemmink, K.A.P.M. Postmatch Recovery of Physical Performance and Biochemical Markers in Team Ball Sports: A Systematic Review. *BMJ Open Sport Exerc. Med.* **2018**, *4*, e000264. [\[CrossRef\]](#)
39. Liberati, A.; Altman, D.G.; Tetzlaff, J.; Mulrow, C.; Gøtzsche, P.C.; Ioannidis, J.P.A.; Clarke, M.; Devereaux, P.J.; Kleijnen, J.; Moher, D. The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Healthcare Interventions: Explanation and Elaboration. *BMJ* **2009**, *339*, b2700. [\[CrossRef\]](#)
40. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Akl, E.A.; Brennan, S.E.; et al. The PRISMA 2020 Statement: An Updated Guideline for Reporting Systematic Reviews. *BMJ* **2021**, *372*, n71. [\[CrossRef\]](#)
41. Rico-González, M.; Pino-Ortega, J.; Clemente, F.; Arcos, A.L. Guidelines for Performing Systematic Reviews in Sports Science. *Biol. Sport* **2021**, *39*, 463–471. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Slim, K.; Nini, E.; Forestier, D.; Kwiatkowski, F.; Panis, Y.; Chipponi, J. Methodological Index for Non-Randomized Studies (Minors): Development and Validation of a New Instrument. *ANZ J. Surg.* **2003**, *73*, 712–716. [\[CrossRef\]](#)
43. Kim, S.Y.; Park, J.E.; Lee, Y.J.; Seo, H.-J.; Sheen, S.-S.; Hahn, S.; Jang, B.-H.; Son, H.-J. Testing a Tool for Assessing the Risk of Bias for Nonrandomized Studies Showed Moderate Reliability and Promising Validity. *J. Clin. Epidemiol.* **2013**, *66*, 408–414. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Barcelos, R.P.; Tocchetto, G.L.; Lima, F.D.; Stefanello, S.T.; Rodrigues, H.F.M.; Sangoi, M.B.; Moresco, R.N.; Royes, L.F.F.; Soares, F.A.A.; Bresciani, G. Functional and Biochemical Adaptations of Elite Level Futsal Players from Brazil along a Training Season. *Medicina* **2017**, *53*, 285–293. [\[CrossRef\]](#)
45. Birdsey, L.P.; Weston, M.; Russell, M.; Johnston, M.; Cook, C.J.; Kilduff, L.P. Neuromuscular, Physiological and Perceptual Responses to an Elite Netball Tournament. *J. Sports Sci.* **2019**, *37*, 2169–2174. [\[CrossRef\]](#)

46. Botonis, P.G.; Toubekis, A.G. Intensified Olympic Preparation: Sleep and Training-Related Hormonal and Immune Responses in Water Polo. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2023**, *18*, 187–194. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Bresciani, G.; Cuevas, M.J.; Garatachea, N.; Molinero, O.; Almar, M.; De Paz, J.A.; Márquez, S.; González-Gallego, J. Monitoring Biological and Psychological Measures throughout an Entire Season in Male Handball Players. *Eur. J. Sport Sci.* **2010**, *10*, 377–384. [\[CrossRef\]](#)
48. Coad, S.; Gray, B.; Wehbe, G.; McLellan, C. Physical Demands and Salivary Immunoglobulin A Responses of Elite Australian Rules Football Athletes to Match Play. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2015**, *10*, 613–617. [\[CrossRef\]](#)
49. Coad, S.; Gray, B.; McLellan, C. Seasonal Analysis of Mucosal Immunological Function and Physical Demands in Professional Australian Rules Footballers. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2016**, *11*, 574–580. [\[CrossRef\]](#)
50. Cormack, S.J.; Newton, R.U.; McGuigan, M.R.; Cormie, P. Neuromuscular and Endocrine Responses of Elite Players during an Australian Rules Football Season. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2008**, *3*, 439–453. [\[CrossRef\]](#)
51. Cunniffe, B.; Griffiths, H.; Proctor, W.; Davies, B.; Baker, J.S.; Jones, K.P. Mucosal Immunity and Illness Incidence in Elite Rugby Union Players across a Season. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2011**, *43*, 388–397. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
52. Horta, T.A.; Bara Filho, M.G.; Coimbra, D.R.; Miranda, R.; Werneck, F.Z. Training Load, Physical Performance, Biochemical Markers, and Psychological Stress during a Short Preparatory Period in Brazilian Elite Male Volleyball Players. *J. Strength Cond. Res.* **2019**, *33*, 3392–3399. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Kamarauskas, P.; Lukonaitienė, I.; Kvedaras, M.; Venckūnas, T.; Conte, D. Relationships between Weekly Changes in Salivary Hormonal Responses and Load Measures during the Pre-Season Phase in Professional Male Basketball Players. *Biol. Sport* **2023**, *40*, 353–358. [\[CrossRef\]](#)
54. Lindsay, A.; Lewis, J.G.; Scarrott, C.; Gill, N.; Gieseg, S.P.; Draper, N. Assessing the Effectiveness of Selected Biomarkers in the Acute and Cumulative Physiological Stress Response in Professional Rugby Union through Non-Invasive Assessment. *Int. J. Sports Med.* **2015**, *36*, 446–454. [\[CrossRef\]](#)
55. Marin, D.P.; Bolin, A.P.; Campoio, T.R.; Guerra, B.A.; Otton, R. Oxidative Stress and Antioxidant Status Response of Handball Athletes: Implications for Sport Training Monitoring. *Int. Immunopharmacol.* **2013**, *17*, 462–470. [\[CrossRef\]](#)
56. Martínez, A.C.; Seco Calvo, J.; Tur Marí, J.A.; Abecia Inchaurregui, L.C.; Orella, E.E.; Biescas, A.P. Testosterone and Cortisol Changes in Professional Basketball Players through a Season Competition. *J. Strength Cond. Res.* **2010**, *24*, 1102–1108. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Mohr, M.; Draganidis, D.; Chatzinikolaou, A.; Barbero-Álvarez, J.C.; Castagna, C.; Douroudos, I.; Avloniti, A.; Margeli, A.; Papassotiropoulos, I.; Flouris, A.D.; et al. Muscle Damage, Inflammatory, Immune and Performance Responses to Three Football Games in 1 Week in Competitive Male Players. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2016**, *116*, 179–193. [\[CrossRef\]](#)
58. Moreira, A.; Arsati, F.; de Oliveira Lima Arsati, Y.B.; da Silva, D.A.; de Araújo, V.C. Salivary Cortisol in Top-Level Professional Soccer Players. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2009**, *106*, 25–30. [\[CrossRef\]](#)
59. Moreira, A.; de Moura, N.R.; Coutts, A.; Costa, E.C.; Kempton, T.; Aoki, M.S. Monitoring Internal Training Load and Mucosal Immune Responses in Futsal Athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2013**, *27*, 1253–1259. [\[CrossRef\]](#)
60. Rowell, A.E.; Aughey, R.J.; Hopkins, W.G.; Esmaeili, A.; Lazarus, B.H.; Cormack, S.J. Effects of Training and Competition Load on Neuromuscular Recovery, Testosterone, Cortisol, and Match Performance During a Season of Professional Football. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, 668. [\[CrossRef\]](#)
61. Saidi, K.; Zouhal, H.; Boullousa, D.; Dupont, G.; Hackney, A.C.; Bideau, B.; Granacher, U.; Ben Abderrahman, A. Biochemical Markers and Wellness Status During a Congested Match Play Period in Elite Soccer Players. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2022**, *17*, 605–620. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
62. Schelling, X.; Calleja-González, J.; Terrados Cepeda, N. Hormonal Analysis in Elite Basketball during a Season. *Rev. Psicol. Deporte* **2009**, *18*, 0363–0367.
63. Schelling, X.; Calleja-González, J.; Torres-Ronda, L.; Terrados, N. Using Testosterone and Cortisol as Biomarker for Training Individualization in Elite Basketball: A 4-Year Follow-up Study. *J. Strength Cond. Res.* **2015**, *29*, 368–378. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
64. Souglis, A.; Bogdanis, G.C.; Giannopoulou, I.; Papadopoulos, C.; Apostolidis, N. Comparison of Inflammatory Responses and Muscle Damage Indices Following a Soccer, Basketball, Volleyball and Handball Game at an Elite Competitive Level. *Res. Sports Med. Print* **2015**, *23*, 59–72. [\[CrossRef\]](#)
65. Spanidis, Y.; Goutzourelas, N.; Stagos, D.; Mpesios, A.; Priftis, A.; Bar-Or, D.; Spandidos, D.A.; Tsatsakis, A.M.; Leon, G.; Kouretas, D. Variations in Oxidative Stress Markers in Elite Basketball Players at the Beginning and End of a Season. *Exp. Ther. Med.* **2016**, *11*, 147–153. [\[CrossRef\]](#)
66. Springham, M.; Williams, S.; Waldron, M.; Strudwick, A.J.; McLellan, C.; Newton, R.U. Salivary Immunoendocrine and Self-Report Monitoring Profiles across an Elite-Level Professional Football Season. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2021**, *53*, 918–927. [\[CrossRef\]](#)
67. Talaei, M.; Nazem, F.; Taherabadi, S.J.; Sajadi, S. Effects of Six Weeks Combined Training Program on Hematological Parameters in Elite Basketball Players. *Ann. Appl. Sport Sci.* **2017**, *5*, 15–23. [\[CrossRef\]](#)
68. Tiernan, C.; Lyons, M.; Comyns, T.; Nevill, A.M.; Warrington, G. Salivary IgA as a Predictor of Upper Respiratory Tract Infections and Relationship to Training Load in Elite Rugby Union Players. *J. Strength Cond. Res.* **2020**, *34*, 782–790. [\[CrossRef\]](#)
69. Twist, C.; Waldron, M.; Highton, J.; Burt, D.; Daniels, M. Neuromuscular, Biochemical and Perceptual Post-Match Fatigue in Professional Rugby League Forwards and Backs. *J. Sports Sci.* **2012**, *30*, 359–367. [\[CrossRef\]](#)

70. Cunniffe, B.; Griffiths, H.; Proctor, W.; Jones, K.P.; Baker, J.S.; Davies, B. Illness Monitoring in Team Sports Using a Web-Based Training Diary. *Clin. J. Sport Med.* **2009**, *19*, 476. [[CrossRef](#)]
71. Cunniffe, B.; Hore, A.J.; Whitcombe, D.M.; Jones, K.P.; Baker, J.S.; Davies, B. Time Course of Changes in Immunoendocrine Markers Following an International Rugby Game. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *108*, 113–122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Hartmann, U.; Mester, J. Training and Overtraining Markers in Selected Sport Events. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2000**, *32*, 209–215. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Hoffman, J.R.; Kang, J.I.E.; Ratamess, N.A.; Faigenbaum, A.D. Biochemical and Hormonal Responses during an Intercollegiate Football Season. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2005**, *37*, 1237–1241. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Jones, M.R.; West, D.J.; Harrington, B.J.; Cook, C.J.; Bracken, R.M.; Shearer, D.A.; Kilduff, L.P. Match Play Performance Characteristics That Predict Post-Match Creatine Kinase Responses in Professional Rugby Union Players. *BMC Sports Sci. Med. Rehabil.* **2014**, *6*, 38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. McLellan, C.P.; Lovell, D.I.; Gass, G.C. Creatine Kinase and Endocrine Responses of Elite Players Pre, during, and Post Rugby League Match Play. *J. Strength Cond. Res.* **2010**, *24*, 2908–2919. [[CrossRef](#)]
76. Roe, G.; Darrall-Jones, J.; Till, K.; Phibbs, P.; Read, D.; Weakley, J.; Jones, B. Between-Days Reliability and Sensitivity of Common Fatigue Measures in Rugby Players. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2016**, *11*, 581–586. [[CrossRef](#)]
77. Twist, C.; Highton, J. Monitoring Fatigue and Recovery in Rugby League Players. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2013**, *8*, 467–474. [[CrossRef](#)]
78. Gutenbrunner, C. Circadian Variations of the Serum Creatine Kinase Level—A Masking Effect? *Chronobiol. Int.* **2000**, *17*, 583–590. [[CrossRef](#)]
79. Rico-González, M.; Clemente, F.M.; Oliveira, R.; Bustamante-Hernández, N.; Pino-Ortega, J. Part I: Relationship among Training Load Management, Salivary Immunoglobulin A, and Upper Respiratory Tract Infection in Team Sport: A Systematic Review. *Healthcare* **2021**, *9*, 366. [[CrossRef](#)]
80. Keaney, L.C.; Kilding, A.E.; Merien, F.; Dulson, D.K. The Impact of Sport Related Stressors on Immunity and Illness Risk in Team-Sport Athletes. *J. Sci. Med. Sport* **2018**, *21*, 1192–1199. [[CrossRef](#)]
81. Gleeson, M.; Bishop, N.; Oliveira, M.; McCauley, T.; Tauler, P.; Muhamad, A.S. Respiratory Infection Risk in Athletes: Association with Antigen-Stimulated IL-10 Production and Salivary IgA Secretion. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **2012**, *22*, 410–417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Mortatti, A.L.; Moreira, A.; Aoki, M.S.; Crewther, B.T.; Castagna, C.; de Arruda, A.F.S.; Filho, J.M. Effect of Competition on Salivary Cortisol, Immunoglobulin A, and Upper Respiratory Tract Infections in Elite Young Soccer Players. *J. Strength Cond. Res.* **2012**, *26*, 1396–1401. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Novas, A.M.P.; Rowbottom, D.G.; Jenkins, D.G. Tennis, Incidence of URTI and Salivary IgA. *Int. J. Sports Med.* **2003**, *24*, 223–229. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Carmichael, M.A.; Thomson, R.L.; Moran, L.J.; Wycherley, T.P. The Impact of Menstrual Cycle Phase on Athletes' Performance: A Narrative Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2021**, *18*, 1667. [[CrossRef](#)]
85. Williams, T.; Walz, E.; Lane, A.; Pebole, M.; Hackney, A. The Effect of Estrogen on Muscle Damage Biomarkers Following Prolonged Aerobic Exercise in Eumenorrheic Women. *Biol. Sport* **2015**, *32*, 193–198. [[CrossRef](#)]
86. Dannecker, E.A.; Liu, Y.; Rector, R.S.; Thomas, T.R.; Fillingim, R.B.; Robinson, M.E. Sex Differences in Exercise-Induced Muscle Pain and Muscle Damage. *J. Pain Off. J. Am. Pain Soc.* **2012**, *13*, 1242–1249. [[CrossRef](#)]
87. Hunter, S.K. The Relevance of Sex Differences in Performance Fatigability. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2016**, *48*, 2247–2256. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Article

Effects of Congested Matches and Training Schedules on Salivary Markers in Elite Futsal Players

Alejandro Soler-López ^{1,2} , Carlos D. Gómez-Carmona ^{1,3,*} , Adrián Moreno-Villanueva ^{1,4},
Ana M. Gutiérrez ^{1,5}  and José Pino-Ortega ^{1,2} 

¹ BioVetMed & SportSci Research Group, University of Murcia, 30100 Murcia, Spain; a.solerlopez@um.es (A.S.-L.); adrian.moreno@ui1.es (A.M.-V.); agmontes@um.es (A.M.G.); josepinoortega@um.es (J.P.-O.)

² Department of Physical Activity and Sport, Faculty of Sport Sciences, University of Murcia, 30720 San Javier, Spain

³ Research Group in Optimization of Training and Sports Performance (GOERD), Department of Didactics of Music Plastic and Body Expression, Faculty of Sport Science, University of Extremadura, 10003 Caceres, Spain

⁴ Faculty of Health Sciences, Isabel I University, 09003 Burgos, Spain

⁵ Department of Animal Medicine and Surgery, Veterinary School, CEIR Campus Mare Nostrum (CMN), University of Murcia, 30100 Espinardo, Spain

* Correspondence: carlosdavid.gomez@um.es

Featured Application: Monitoring salivary biomarkers demonstrates a potential application to assess the internal training load and recovery status of elite futsal players during congested competition periods, especially total protein and salivary immunoglobulin A. Tracking biomarker changes provides a practical tool for coaching staff to guide adjustments to training loads, nutrition, and recovery protocols to mitigate risks and optimize athlete performance and health.

Abstract: A congested match and training schedule could alter internal load, and this could be reflected in biomarkers of stress and immunity in elite futsal players. The aim of this study was to analyze the effects of a congested match and training schedule on internal load and levels of total protein, total oxidant status (TOS), total antioxidant capacity (TAC), oxidative stress index, and the concentrations of salivary immunoglobulin A (SIgA) in 17 professional players from the same Portuguese elite futsal club (age: 23.07 ± 6.76 years old; height: 1.75 ± 0.06 m; body mass: 75.47 ± 7.47 kg; experience in playing in elite: 5.38 ± 2.03 years) who performed 5 matches and 16 training sessions in a period of 27 days. The salivary content of total protein, TOS, TAC, oxidative stress index, and SIgA were calculated before and after the training sessions and the unofficial matches under study. Saliva sampling was conducted 10 min before each match or training session and 40 min after (post-match and post-training). The MANOVA of repeated measures showed a significant difference for total protein and SIgA ($p < 0.01$). Total protein (sphericity = 0.007; statistical power = 0.818) and SIgA (sphericity = 0.018; statistical power = 0.693) are highly correlated with the time factor. The main findings revealed several key points: (a) There was a significant increase in total protein, SIgA, and TAC during acute load (pre- vs. post-session) in both training and match contexts. Specifically, total protein and SIgA displayed notable increments in both training and match settings, while TAC exhibited significant increases exclusively during matches. (b) No changes in TOS and oxidative stress index were observed during acute load in either training or match contexts. (c) A positive trend was noted between the chronic load during a congested week of the precompetitive season and the decrease in total protein and SIgA levels. (d) Additionally, a positive correlation between internal training loads and oxidative/antioxidant responses was found, as expressed by the oxidative stress index, without significant differences (p -value > 0.05) in acute and chronic loads during congested matches and training schedules.

Keywords: oral mucosal immunity; internal load; biomarkers; fatigue; oxidative stress; recovery



Citation: Soler-López, A.; Gómez-Carmona, C.D.; Moreno-Villanueva, A.; Gutiérrez, A.M.; Pino-Ortega, J. Effects of Congested Matches and Training Schedules on Salivary Markers in Elite Futsal Players. *Appl. Sci.* **2024**, *14*, 4968. <https://doi.org/10.3390/app14124968>

Academic Editor: Bin Gao

Received: 14 May 2024

Revised: 4 June 2024

Accepted: 5 June 2024

Published: 7 June 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

In recent decades, the physiological demands of futsal have undergone significant alterations. This can be attributed to the escalation in the number of high-level futsal games being played and the increased intensity of such games on average [1,2]. When the fixture list becomes congested, with players compelled to participate in two matches each week for several weeks, the gap between subsequent matches shrinks to just 2–3 days. This limited recovery time may prove insufficient for complete player recuperation, resulting in acute and chronic fatigue, as well as potentially leading to underperformance, heightened levels of fatigue, and an elevated risk of injury [3–5]. The issue of congested periods has been extensively discussed in the literature on football match analysis [6,7]. However, only a few studies have assessed the effects of futsal games during a short congested schedule, which makes it difficult to draw any definitive conclusions. Therefore, it is crucial to register the workload suffered by futsal players during congested match periods in training and competition to manage fatigue, reduce injury risk, and determine player readiness for performance [8].

Players' workload has been categorized into two types: internal and external. External load pertains to the physical exertion experienced by players, which refers to the stimulus applied. Meanwhile, internal load pertains to the biochemical, physiological, and psychological reactions triggered by training sessions or matches [9,10]. The enhanced accessibility of contemporary technological tools for monitoring external loads (e.g., the Global Positioning System or Local Positioning Systems) has led to a decrease in focus on internal loads or actual psychophysiological responses [11]. Nevertheless, the significance of registering the internal responses to the applied stimuli has been recently stressed in order to obtain a comprehensive understanding of an athlete's condition [11]. From this perspective, a positive correlation has been established between physical stress and neuroimmune–endocrine responses in elite athletes [12,13]. Several studies have been conducted to explore the connection between different neuroimmune–endocrine responses and training stress [14–17]. However, we have not discovered any articles that have investigated the relationship between neuroimmune–endocrine system responses in top-level futsal players during a congested schedule.

Immunoglobulin A (IgA) secretion patterns are widely acknowledged as a crucial marker of immune responses. Salivary immunoglobulin A (SIgA) acts as a vital immunological barrier, neutralizing and preventing viral pathogens from infiltrating the body through mucosal surfaces [18]. Numerous studies have proposed a correlation between the risk of upper respiratory tract infections and SIgA levels, particularly when combined with other antimicrobial proteins present in the saliva, such as amylase, defensins, lysozyme, and lactoferrin [19]. For athletes, contracting upper respiratory tract infections can have detrimental effects on their training regimens and performance capabilities [20,21]. Some scientific studies have investigated how acute exercise stress influenced the mucosal immune system, finding a temporary decrease in the level of SIgA after a session of intense exercise [20,22–25]. The decrease in SIgA levels has been associated with compromised immune function and an elevated susceptibility to upper respiratory tract infections. For instance, Mortatti et al. [26] documented a reduction in SIgA concentration accompanied by a higher incidence of upper respiratory tract infections among elite under-19 soccer players who were monitored during a series of seven matches over a 20-day period. Nonetheless, there remains ambiguity surrounding the relationship between exercise training and the SIgA response, as some researchers have not reported any changes [27,28] and have even observed an increase in SIgA following acute exercise [29].

While the corpus of literature examining salivary biomarkers has experienced a considerable expansion over the past decade [13,15,17,20,22,28,30–33], very few studies investigated TOS, TAC, or fluctuations of total protein levels [16,34,35]. Typically, total protein concentrations can serve as potential indicators of overall hydration levels in humans. The findings reported by Walsh et al. [35] indicate a strong correlation between salivary osmolality, urinary osmolality, salivary total protein concentration, and plasma osmolality in

dehydrated subjects. Additionally, their study revealed an increase in salivary total protein levels from pre-exercise to post-exercise conditions during a trial involving prolonged exercise without fluid intake. However, despite its relationship with the hydration status of the athlete, we have not found studies that analyze whether total protein can be a sensitive biomarker to detect fatigue in elite futsal players.

According to the evidence that participation in futsal competitions can lead to decreased SIgA levels and increased internal load during training and competition periods, there are currently no studies investigating immune and endocrine responses during a congested competitive period among elite futsal players. Therefore, the present study aimed to analyze the effects of a congested match and training schedule on levels of total protein, TOS, TAC, oxidative stress index, and the concentrations of SIgA in elite futsal players, clarifying whether these biomarkers are sensitive to detecting acute fatigue in elite futsal players. The hypothesis was that all the biomarkers analyzed in this manuscript would be sensitive to detecting both acute and chronic loads in elite futsal players during a congested period of matches and training sessions.

2. Materials and Methods

2.1. Experimental Approach to the Problem

This investigation aimed to examine the responses of various salivary biomarkers (total protein, SIgA, TAC, TOS, and oxidative stress index) and their relationships with training and match loads in elite futsal players during a congested period in the precompetitive season. The participants provided resting saliva samples approximately 10 min before the pre-session warm-up (PRE), while post-session saliva samples were collected within 40 min after the conclusion of the session (POST). The elite futsal players performed a total of twenty-one sessions during the study period, comprising sixteen training sessions and five unofficial matches. The designated training sessions incorporated a combination of tactical technical training (TT) and physical training (PT) throughout the preseason period. The PT was integrated with the TT on the court, with an average training duration of approximately 100–120 min per day, excluding the time allocated for warm-up and cool-down periods. The volume and intensity of TT and PT remained relatively consistent across all training sessions. However, the number of training sessions conducted per week varied between preseason weeks (see Table 1). It is important to note that this investigation occurred during the pre-season period, and no official matches were held during the 4-week duration of this study.

Table 1. Training, a match-congested schedule, and saliva sampling during the preseason.

Week	Monday	Tuesday	Wednesday	Thursday	Friday	Saturday	Sunday
1	Session 1 TT//PT	Session 2 TT//PT	Session 3 TT//PT	Session 4 TT//PT	Session 5 TT//PT		-
2	Session 6 TT//PT SS1	Session 7 TT//PT	Session 8 TT//PT	Session 9 TT//PT SS2	Session 10 TT	Session 11 FM SS3	-
3	Session 12 TT//PT SS4	Session 13 TT//PT	Session 14 TT//PT	Session 15 TT//PT SS5	-	Session 16 FM SS6	-
4	Session 17 FM SS7	Session 18 TT//PT SS8	Session 19 FM SS9	Session 20 TT//PT SS10	-	Session 21 FM SS11	-

Notes: PT = physical training; SS = salivary sample; TT = tactical technical training; FM = friendly match.

2.2. Subjects

This study employed a convenience sampling approach, recruiting 17 players from the same elite Portuguese futsal club (age: 23.07 ± 6.76 years; height: 1.75 ± 0.06 m; body mass: 75.47 ± 7.47 kg; experience in elite-level play: 5.38 ± 2.03 years). Prior to

the commencement of this study, all participating players were familiarized with the aims, procedures, requirements, potential risks, and benefits of the research. The athletes volunteered to participate and were informed about the research protocol, subsequently providing their written informed consent. The exclusion criteria included the following: (i) any recent injury requiring medical attention; and (ii) consumption of anti-inflammatory drugs or antioxidant supplements during the study period. This study received approval from the institute's research ethics committee (ID: 3495/2021) and adhered to the ethical recommendations for research involving human participants, as outlined in the Declaration of Helsinki (2013).

2.3. Saliva Collection

The participants were instructed to abstain from consuming food and caffeine products for a minimum of 2 h prior to the pre-collection of saliva samples. Initially, they were required to rinse their mouths with distilled water to eliminate potential contaminants that could influence salivary IgA levels. Participants maintained a seated position with eyes open and head slightly tilted forward, and they were instructed to chew on a sponge for a period of 1 min before expelling the saliva into sterile tubes. To minimize the influence of diurnal variation, all training sessions took place in the afternoon, commencing at 7 pm, with ambient temperatures ranging between 24 and 27 °C. Saliva samples were collected using synthetic fiber swabs and specific tubes (Salivette Cortisol tubes, Sarstedt AG & Co., KG, Nümbrecht, Germany). The collected saliva samples were stored at −80 °C until further analysis.

2.4. Assays

2.4.1. Salivary Immunoglobulin A

The concentrations of SIgA were quantified using an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) kit (Salivary Secretory IgA indirect Enzyme immunoassay Kit, Salimetrics, State College, PA, USA). The saliva samples underwent a meticulous analytical process: Initially, reagents were prepared according to the manufacturer's instructions, and the plate layout was arranged for duplicate assays of the saliva samples. The required strips were retained in the holder, while the remaining strips were stored at 2–8 °C. Subsequently, 3 mL of 1X SIgA diluent was pipetted into a tube, adjusting the volume when not using the full plate. For sample preparation, tubes were labeled for each sample, and 100 µL of diluent was added, followed by 25 µL of saliva and vortexing. In separate 5 mL tubes, 4 mL of diluent was added, and 10 µL of standards, controls, and diluted saliva samples were pipetted, along with 10 µL of diluent to the zero tube. The antibody enzyme conjugate was diluted 1:120, and 50 µL was added to each tube, followed by a 90 min incubation. After incubation, 50 µL from each tube was transferred to designated plate wells, with 50 µL of diluent added to blank wells. The plate was mixed for 90 min, washed 6 times with 1X wash buffer, and then 50 µL of TMB substrate solution was added to each well, followed by a 40 min incubation in darkness. Finally, 50 µL of stop solution was added to each well, ensuring color change, and optical density was read at 450 nm within 10 min. A secondary filter correction at 490 to 492 nm was considered for accuracy.

2.4.2. Oxidative Stress Biomarker Quantifications

Since antioxidants reduce oxidants, the TAC method is based on the measurement of the reducing ability of the antioxidants in the sample compared to a control antioxidant, Trolox, which is used as a calibrator. Specifically, the method FRAP (ferric reducing antioxidant power) measures the reduction of the ferric tripyridyltriazine complex of the reagent used to the ferrous (FeII) at low pH. This reaction produces color, with an absorption maximum at 593 nm [36]. The optimized assay protocol (FRAP) involved combining 36 µL of the saliva sample with 270 µL of the ferric reducing power reagent. Antioxidant activity was determined by interpolating the measured absorbance of the samples at 593 nm on a calibration curve generated with Trolox at concentrations ranging from 100 to 1.56 µM/L,

employing a linear regression curve fit. The coefficients of variation were consistently below 15%, and the limit of detection was established at 0.432 $\mu\text{M/L}$ Trolox equivalents.

For the assessment of oxidant status, the commercially available Pierce™ Quantitative Peroxide assay (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA) was utilized. Saliva samples were diluted 1:2 for analysis, and the reaction consisted of 150 μL of standard or saliva sample and 70 μL of working buffer. The levels of oxidants in the saliva samples were calculated by interpolating the measured absorbances at 595 nm using a 4-parameter curve fit with a calibration curve constructed with hydrogen peroxide at concentrations ranging from 31.25 to 0.97 $\mu\text{M/L}$. The coefficients of variation were determined to be below 11%, and the detection limit for peroxidase equivalents was established at 0.5 $\mu\text{M/L}$ of peroxidase equivalents. The oxidative stress index was calculated as the ratio of TOS to TAC, following established methodologies [37].

2.4.3. Total Protein Content Determination

The total protein content of saliva samples was assessed following established protocols [38]. Saliva samples were diluted (1:40) for analysis, and the concentrations were calculated by interpolating the absorbances of the samples obtained at 590 nm in a calibration curve of 5–100 ng/mL of bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) using a linear curve fit.

2.5. Statistical Analysis

Firstly, the sample characterization of the biochemical response of the futsal players during the mesocycle was conducted by means and standard deviations. Normal data distribution and homoscedasticity were confirmed by the Kolmogorov–Smirnov and Levene tests [39]. To evaluate the acute effect of fatigue, two analyses were performed: (1) a repeated measures *t*-test to evaluate the result of training and match workload in the levels of total protein, SIgA, TAC, TOS, and oxidative stress index previous and before the events; and (2) an independent measures *t*-test to evaluate whether training and matches produce different effects using new calculated variables as the difference between post- and pre-values. To evaluate the chronic effect of fatigue, a MANOVA of repeated measures was conducted to identify the mean of differences between the session throughout the congested period. Two-by-two comparisons were performed by Bonferroni correction [39]. The statistical power calculation, based on a *F*-test for within-group factors with two levels (training vs. match) and two time points (pre vs. post), determined that a sample of 17 participants would provide 95.5% power to detect differences with a $p < 0.05$ and effect size of 0.65, using G-Power [40]. In addition, partial omega-squared (ω_p^2) was calculated to evaluate the magnitude of the differences for MANOVA and interpreted following Cohen [41]: <0.01 as trivial, 0.01–0.06 as small, 0.06–0.14 as medium, and >0.14 as large. Instead, Cohen's *d* was used to interpret 2-by-2 comparisons using the classification of Hopkins et al. [42]: trivial (<0.2), low (0.2–0.5), moderate (0.5–0.8), and high (>0.8). Statistical analyses were conducted by SPSS v24.0 software (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA), and graphics were created using GraphPad Prism v9.0 software (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Statistical significance was established at $p < 0.05$.

3. Results

3.1. Acute Load

Figure 1 shows the effect of training and matches in pre- and post-values in the biochemical variables evaluated during the congested-fixture period. Higher values after sessions were found in total protein with moderate effect in both contexts (training: $t = -6.85$, $p < 0.01$, $d = 0.73$; match: $t = -4.15$, $p < 0.01$, $d = 0.52$) and in SIgA with high effect in matches ($t = -3.09$, $p < 0.01$, $d = 1.09$) and moderate effect in training ($t = -2.95$, $p < 0.01$, $d = 0.52$). In addition, a low effect with high after-match values were found in TAC ($t = -3.67$, $p < 0.01$, $d = 0.46$). No effect was found in TAC during training sessions and in TOS and oxidative stress index in both scenarios.

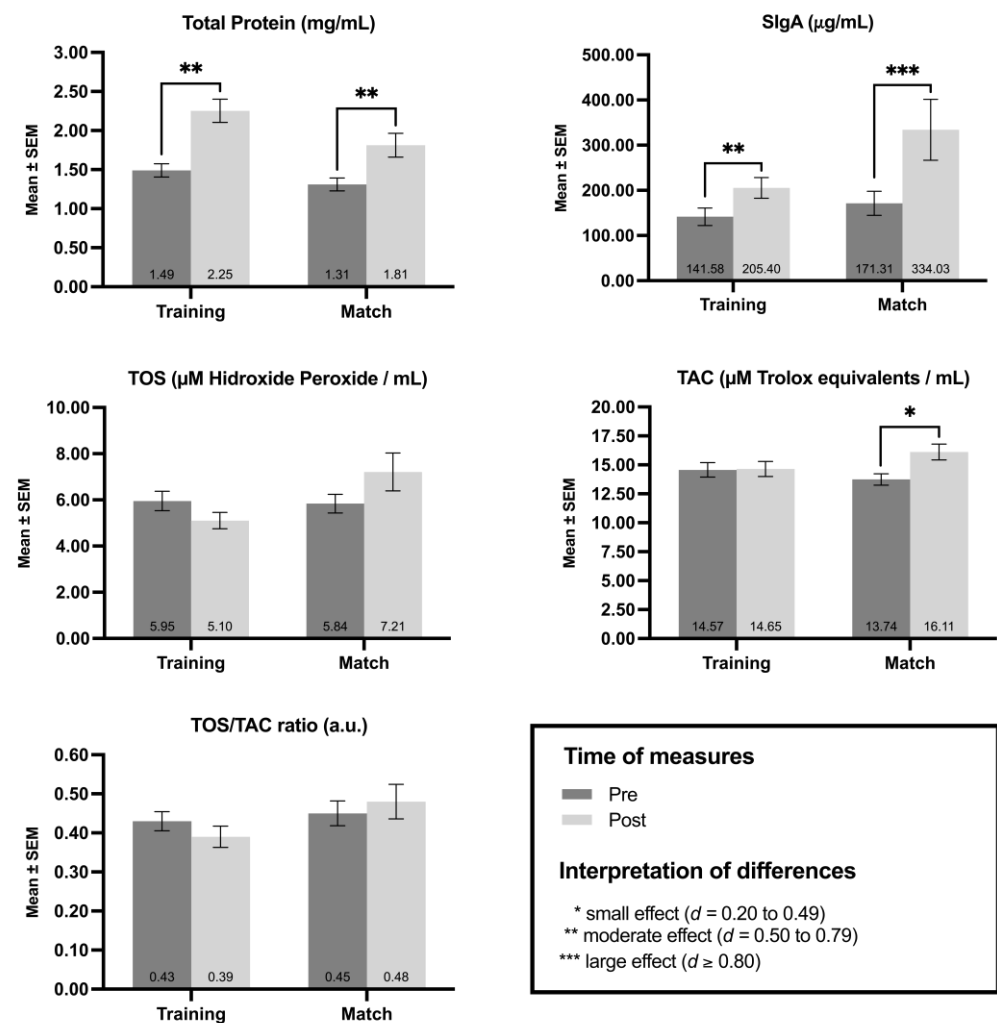


Figure 1. Acute fatigue (pre- vs. post-session) in training and match contexts in immunological and oxidative variables. **Notes:** SIgA: salivary immunoglobulin A; TOS: total oxidant status; TAC: total antioxidant capacity. * indicates statistical significance set at a p -value of ≤ 0.05 . Cohen's d is interpreted by the authors as: * small ($d = 0.2$ to 0.49), ** medium ($d = 0.5$ to 0.79), and *** large ($d \geq 0.8$).

The differences of acute effects between training and match contexts in biochemical markers are shown in Table 2. Higher acute fatigue in the match context was found with a moderate effect in SIgA and a low effect in TAC and TOS. No effect was found in the total protein and oxidative stress index between session contexts.

Table 2. Independent measures t -test to evaluate the differences in acute effect between training and match contexts.

	Training M ± SD	Match M ± SD	t	p -Value	Cohen's d (Effect)
Total Protein	0.76 ± 1.04	0.50 ± 0.97	1.55	0.13	0.15 (trivial)
SIgA	63.81 ± 122.46	162.73 ± 149.01	−1.96	0.04	0.77 (moderate)
TAC	0.09 ± 4.73	2.37 ± 5.12	−2.84	<0.01	0.47 (low)
TOS	−0.85 ± 3.37	1.37 ± 5.66	−2.37	0.02	0.49 (low)
TOS/TAC ratio	−0.04 ± 0.20	0.03 ± 0.32	−1.18	0.24	0.13 (trivial)

Notes: SIgA: salivary immunoglobulin A; TOS: total oxidant status; TAC: total antioxidant capacity. t = t -statistic; p = p -value. **Bold** indicates statistical significance set at a p -value of ≤ 0.05 . Cohen's d is interpreted by the authors as ($d = 0.2$ to 0.49) small, ($d = 0.5$ to 0.79) medium, and ($d \geq 0.8$) large.

3.2. Chronic Load

Figure 2 shows the dynamics of biochemical markers throughout a week during the congested fixture period at four moments: (1) pre-match; (2) post-match; (3) 48 h after the match; and (4) 120 h after the match. Statistical differences with a large effect size were found in total protein ($F = 47.02$; $p < 0.01$; $\omega_p^2 = 0.81$) and SIgA variables ($F = 14.69$; $p < 0.01$; $\omega_p^2 = 0.56$). TOS, TAC, and oxidative stress index did not present differences among assessment moments ($F < 0.77$; $p > 0.52$; $\omega_p^2 < 0.01$).

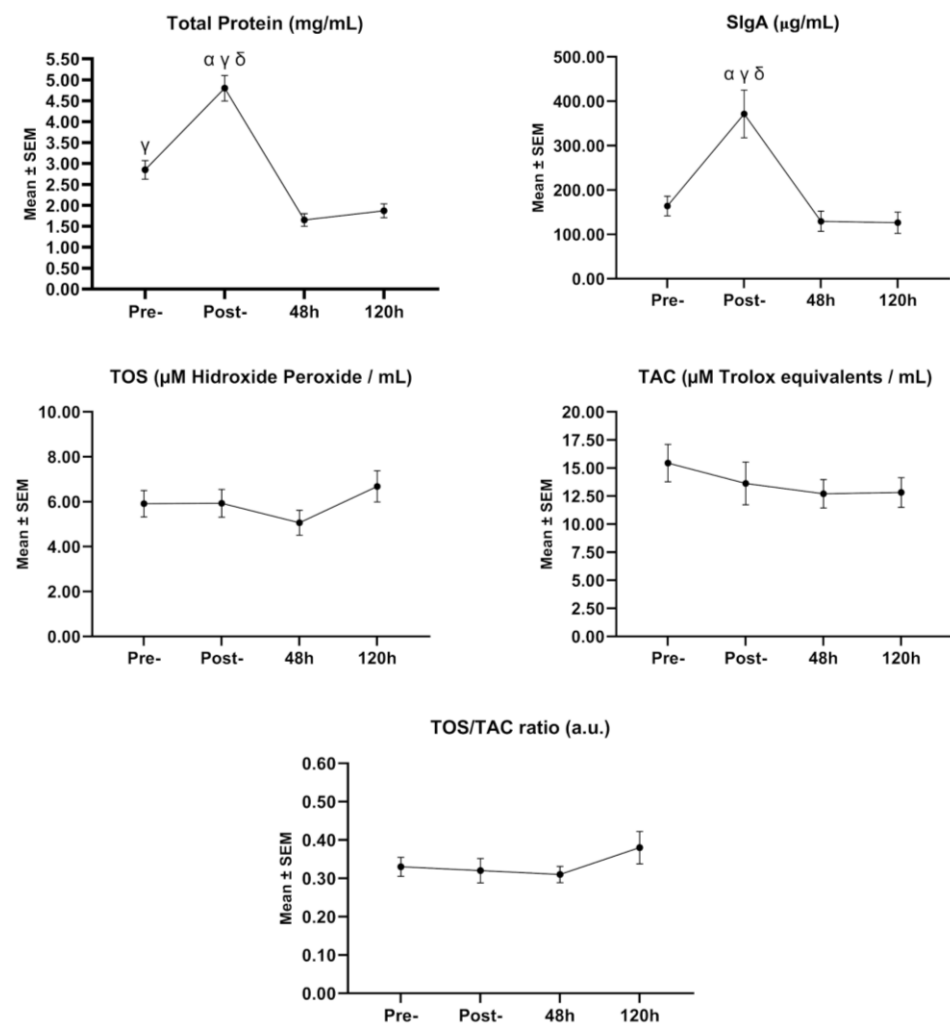


Figure 2. Immunological and oxidative marker dynamics in four moments throughout the congested fixture period (pre-: pre-match; post-: post-match; 48 h: 48-h after the match; 120 h: 120-h after the match). **Notes:** SIgA: salivary immunoglobulin A; TOS: total oxidant status; TAC: total antioxidant capacity. α: Statistical differences from the pre-match condition ($p < 0.05$); β: Statistical differences from the post-match condition ($p < 0.05$); γ: Statistical differences 48-h after match condition ($p < 0.05$); δ: Statistical differences 120-h after match condition ($p < 0.05$).

Regarding total protein, higher values were found in the post-match condition in comparison with the rest of assessment moments with a large effect size ($p < 0.01$; vs. pre-: $d = 1.25$, vs. 48-h: $d = 1.80$, vs. 120-h: $d = 1.63$). As well as higher values being found in the pre-match condition versus the 48-h condition ($p < 0.01$; $d = 0.84$ large), SIgA also presented higher values in the post-match condition with a large effect size ($p < 0.01$; vs. pre-: $d = 1.61$, vs. 48 h: $d = 1.69$, vs. 120-h: $d = 1.82$).

4. Discussion

This study examined the changes in total protein, SIgA, TAC, TOS, and oxidative stress index and their relationships with training loads during a congested match and training schedule period in elite futsal players, conducted in the precompetitive season. The main findings were (a) a significant increase in total protein, SIgA, and TAC were observed in acute load (pre- vs. post-session) in training and match contexts, specifically, total protein and SIgA showed notable increments in both training and match settings, while TAC exhibited significant increases exclusively during matches; (b) no changes in TOS and oxidative stress index were detected in acute load during training and match contexts; (c) a positive trend was observed between the chronic load during a congested week of the precompetitive season and the decrease in total protein and SIgA levels; and (d) a positive relationship was found between internal training loads and oxidative/antioxidant responses, as expressed by a oxidative stress index without significant differences (p -value > 0.05) in acute and chronic loads during a congested match and training schedule.

4.1. Acute Load

Regarding the relative changes in SIgA in acute load, previous studies involving elite athletes within their regular training regimens or competitive settings have shown that intense endurance exercise typically leads to reduced levels of SIgA post-exercise [43]. This consensus is supported by numerous studies illustrating declines in SIgA levels following intense physical exertion [20,23–25,44,45]. However, the present study did not find evidence to support the hypothesis that a congested period of matches and training sessions during the futsal preseason would transiently suppress mucosal immune function in elite players, as assessed by SIgA levels. Notably, increases in SIgA, as observed in the players (see Figure 1), have been similarly reported in prior investigations [27,46–48]. These discrepancies in the scientific literature may be attributed to the variability in the SIgA measurement employed in the studies to elucidate the findings. The ratio of SIgA to total protein (SIgA/Pro ratio) has been investigated and discussed in previous exercise immunology research papers. Tomasi et al. [49] reported a higher percentage of SIgA depletion when this variable was expressed relative to the concentration of total proteins. However, it has been suggested that utilizing the ratio of SIgA to total protein concentration can lead to misinterpretation due to the fact that the total protein content of saliva is considerably more variable due to the high concentrations of enzymes such as amylase, which are induced by flow rate stimulation. It may be more appropriate to express salivary IgA concentration as a ratio to albumin, as albumin is less influenced by flow rate and is not actively secreted across the epithelial membrane [46,50].

Regarding total protein, the results of the present study also show that there was a significant increase in total protein from PRE ($1.49 \pm 0.79 \text{ mg/mL}^{-1}$) to POST ($2.25 \pm 1.40 \text{ mg/mL}^{-1}$) training and PRE ($1.31 \pm 0.77 \text{ mg/mL}^{-1}$) to POST ($1.81 \pm 1.22 \text{ mg/mL}^{-1}$) match. These findings support the results found in other studies [46], which showed increases in total protein concentrations ($0.48 \pm 0.10 \text{ mg/mL}^{-1}$ to $1.80 \pm 0.38 \text{ mg/mL}^{-1}$). The role of total protein in immunological studies and the changes in protein levels under different physiological conditions are still poorly understood. These limitations are extensive for most of the salivary protein functions [51]. In addition, between matches and training sessions, during acute loads, total protein seems to be a less sensitive variable for determining the acute effect on elite futsal players compared to SIgA; these changes appear to be largely due to stimulation of amylase secretion by increased sympathetic nervous activity, which appears to have a greater effect on SIgA levels [52].

Concerning the relative changes in TOS, TAC, and oxidative stress index under acute loading conditions, the present study did not observe statistically significant differences ($p > 0.05$) in all variables, except for TAC. This discrepancy could be attributed to a intra-subject coefficient of variation (33.45%). Oxidative responses to workload are inherent to the body's physiological processes. However, to ascertain the body's oxidative load tolerance, it is imperative to scrutinize its antioxidant response. Therefore, the TOS/TAC

ratio serves as an indicator of the oxidative stress index. Furthermore, as demonstrated in Table 2, match-related loads elicit a significant increase in both TOS and TAC variables (p -value < 0.02 and p -value < 0.01 , respectively) compared to training sessions. Nevertheless, no distinctions are evident in the oxidative stress index, suggesting that the antioxidant defense mechanism adequately counteracts the oxidative demands. These findings imply that subjects in this study did not exhibit oxidative stress in response to acute loads during the congested match and training schedule.

4.2. Chronic Load

Regarding chronic load, a congested week of preseason was analyzed to observe if there were significant changes in the variables total protein, SIgA, TAC, TOS, and oxidative stress index at three time points (see Figure 2) compared to PRE levels. The findings did not show significant differences in any of the evaluated variables beyond the results shown in the acute load mentioned earlier. However, there appears to be a positive trend between the chronic load during a congested week of the precompetitive season and the decrease in total protein and SIgA levels, and a positive relationship was found between internal training loads and oxidative/antioxidant responses.

Total protein and SIgA levels did not show significantly altered values at 48 h or 120 h, indicating that the subjects included in this study do not show a risk of contracting upper respiratory tract infections (URTIs) due to a decreased immune reaction, as shown in other studies [13,53–55] where a significant depletion of SIgA was found with the progression of workloads supported by athletes. The findings may be due to the large interindividual variability of the variables (total protein and SIgA), as well as the small sample size. Additionally, the time of measurement of the mentioned variables appears to be a determining factor for their determination; most articles that have analyzed this variable show highly heterogeneous measurement times [20,23–25,27,44–49], making it difficult to determine the most suitable time to measure this variable, as we can find in other variables such as lactate, of which we know that its optimal measurement time is around 3–5 min after activity [56]. The values of TAC, TOS, and oxidative stress index remained unchanged (see Figure 2), indicating that the chronic load supported by elite futsal athletes during the evaluated week in the preseason showed no signs of oxidative stress. The TOS and TAC variables behaved similarly, resulting in an unchanged oxidative stress index. The loads induced on these athletes during this period were optimally assimilated at the oxidative level by all elite players, showing no signs of a high oxidative stress index.

The present findings indicate that after a congested period of matches and training during the competitive preseason in elite futsal players, total protein and SIgA variables have proven to be sensitive in detecting physiological changes in athletes under acute load. Additionally, SIgA emerges as a more sensitive variable than total protein in distinguishing between training and matches, partly explained by the influence of sympathetic nervous system activity. This study suggests that chronic load does not appear to diminish SIgA levels. However, this does not imply that SIgA should be disregarded as a potential mechanism that could render athletes more susceptible to infection, especially during periods of overreaching or overtraining. Moreover, given the nature of team sports and their distinct demands compared to endurance exercises, the likelihood of different effects should be considered. Regarding the oxidative stress index, players did not exhibit signs of oxidative stress under acute and chronic loads, indicating optimal assimilation of the load during congested matches and training schedules.

5. Conclusions

The presented data indicate that monitoring the training process can assist coaches and scientists in comprehending the immune and oxidative responses to training. Indeed, this study revealed that SIgA and total protein may serve as valuable markers of match intensity in elite futsal players during periods of intensified training. Furthermore, they could be utilized to mitigate the risk of URTIs during the in-season phase, with the monitoring of the

SlgA as routine analysis. However, the variability in responses among players suggests the necessity for individual analysis of results in team sports settings. Additionally, evaluating oxidative and antioxidant responses through the oxidative stress index can aid coaches and trainers in determining whether athletes exhibit a negative balance in the oxidative stress index and consequently adjust or adapt training loads or nutritional strategies accordingly. Indeed, meticulous monitoring and control of training using these practical tools may enhance athlete health and availability for selection. Further research into the role of acute post-exercise changes in SlgA expression in elite professional soccer players is needed.

Author Contributions: Conceptualization, A.S.-L., A.M.G. and J.P.-O.; methodology, A.S.-L., A.M.-V. and A.M.G.; software, C.D.G.-C. and J.P.-O.; validation, A.M.-V., A.M.G. and J.P.-O.; formal analysis, A.S.-L. and C.D.G.-C.; investigation, A.S.-L. and A.M.-V.; resources, A.M.G. and J.P.-O.; data curation, A.S.-L. and C.D.G.-C.; writing—original draft preparation, A.S.-L. and C.D.G.-C.; writing—review and editing, A.M.-V., A.M.G. and J.P.-O.; visualization, C.D.G.-C. and A.M.-V.; supervision, A.M.G. and J.P.-O.; project administration, A.M.G. and J.P.-O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of the University of Murcia (ID: 3495/2021).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are available on request from the corresponding author. The data are not publicly available due to the Organic Law 3/2018, of 5 December, on the Protection of Personal Data and Guarantee of Digital Rights of the Government of Spain, which requires that this information must be in custody.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Clemente, F.M.; Martinho, R.; Calvete, F.; Mendes, B. Training Load and Well-Being Status Variations of Elite Futsal Players across a Full Season: Comparisons between Normal and Congested Weeks. *Physiol. Behav.* **2019**, *201*, 123–129. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Ribeiro, J.N.; Monteiro, D.; Gonçalves, B.; Brito, J.; Sampaio, J.; Travassos, B. Variation in Physical Performance of Futsal Players During Congested Fixtures. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2022**, *17*, 367–373. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Spyrou, K.; Freitas, T.T.; Marín-Cascales, E.; Alcaraz, P.E. Physical and Physiological Match-Play Demands and Player Characteristics in Futsal: A Systematic Review. *Front. Psychol.* **2020**, *11*, 569897. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Bengtsson, H.; Ekstrand, J.; Häggglund, M. Muscle Injury Rates in Professional Football Increase with Fixture Congestion: An 11-Year Follow-up of the UEFA Champions League Injury Study. *Br. J. Sports Med.* **2013**, *47*, 743–747. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Nedelec, M.; McCall, A.; Carling, C.; Legall, F.; Berthoin, S.; Dupont, G. The Influence of Soccer Playing Actions on the Recovery Kinetics after a Soccer Match. *J. Strength Cond. Res.* **2014**, *28*, 1517–1523. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Yiannaki, C.; Barron, D.; Collins, D.; Carling, C. Match Performance in a Reference Futsal Team during an International Tournament—Implications for Talent Development in Soccer. *Biol. Sport* **2020**, *37*, 147–156. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Gualtieri, A.; Rampinini, E.; Sassi, R.; Beato, M. Workload Monitoring in Top-Level Soccer Players During Congested Fixture Periods. *Int. J. Sports Med.* **2020**, *41*, 677–681. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Halson, S.L. Monitoring Training Load to Understand Fatigue in Athletes. *Sports Med.* **2014**, *44* (Suppl. S2), S139–S147. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Scott, B.R.; Lockie, R.G.; Knight, T.J.; Clark, A.C.; Janse de Jonge, X.A.K. A Comparison of Methods to Quantify the In-Season Training Load of Professional Soccer Players. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2013**, *8*, 195–202. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Oliva-Lozano, J.M.; Muyor, J.M.; Puche Ortuño, D.; Rico-González, M.; Pino-Ortega, J. Analysis of Key External and Internal Load Variables in Professional Female Futsal Players: A Longitudinal Study. *Res. Sports Med. Print* **2021**, *31*, 309–318. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Impellizzeri, F.M.; Marcora, S.M.; Coutts, A.J. Internal and External Training Load: 15 Years On. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2019**, *14*, 270–273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Spence, L.; Brown, W.J.; Pyne, D.B.; Nissen, M.D.; Sloots, T.P.; McCormack, J.G.; Locke, A.S.; Fricker, P.A. Incidence, Etiology, and Symptomatology of Upper Respiratory Illness in Elite Athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2007**, *39*, 577–586. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

13. Gleeson, M.; Bishop, N.; Oliveira, M.; McCauley, T.; Tauler, P.; Muhamad, A.S. Respiratory Infection Risk in Athletes: Association with Antigen-Stimulated IL-10 Production and Salivary IgA Secretion. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **2012**, *22*, 410–417. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Moreira, A.; de Moura, N.R.; Coutts, A.; Costa, E.C.; Kempton, T.; Aoki, M.S. Monitoring Internal Training Load and Mucosal Immune Responses in Futsal Athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2013**, *27*, 1253–1259. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Kamarauskas, P.; Conte, D. The Effect of Basketball Matches on Salivary Markers: A Systematic Review. *Biol. Sport* **2022**, *39*, 791–808. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Moreira, A.; Bacurau, R.; Napimoga, M.; Arruda, A.; Freitas, C.; Drago, G.; Aoki, M. Salivary IL-21 and IgA responses to a competitive match in elite basketball players. *Biol. Sport* **2013**, *30*, 243–247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Kamarauskas, P.; Conte, D. Changes in Salivary Markers during Basketball Long-Term and Short-Term Training Periods: A Systematic Review. *Biol. Sport* **2022**, *39*, 673–693. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Lamm, M.E. Interaction of Antigens and Antibodies at Mucosal Surfaces. *Annu. Rev. Microbiol.* **1997**, *51*, 311–340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. West, N.P.; Pyne, D.B.; Renshaw, G.; Cripps, A.W. Antimicrobial Peptides and Proteins, Exercise and Innate Mucosal Immunity. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **2006**, *48*, 293–304. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Gleeson, M.; McDonald, W.A.; Pyne, D.B.; Cripps, A.W.; Francis, J.L.; Fricker, P.A.; Clancy, R.L. Salivary IgA Levels and Infection Risk in Elite Swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.* **1999**, *31*, 67–73. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Pyne, D.B.; McDonald, W.A.; Gleeson, M.; Flanagan, A.; Clancy, R.L.; Fricker, P.A. Mucosal Immunity, Respiratory Illness, and Competitive Performance in Elite Swimmers. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2001**, *33*, 348–353. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Moreira, A.; Arsati, F.; de Oliveira Lima-Arsati, Y.B.; de Freitas, C.G.; de Araújo, V.C. Salivary Immunoglobulin A Responses in Professional Top-Level Futsal Players. *J. Strength Cond. Res.* **2011**, *25*, 1932–1936. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Mackinnon, L.T.; Ginn, E.; Seymour, G.J. Decreased Salivary Immunoglobulin A Secretion Rate after Intense Interval Exercise in Elite Kayakers. *Eur. J. Appl. Physiol.* **1993**, *67*, 180–184. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. MacKinnon, L.T.; Jenkins, D.G. Decreased Salivary Immunoglobulins after Intense Interval Exercise before and after Training. *Med. Sci. Sports Exerc.* **1993**, *25*, 678–683. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Nieman, D.C.; Henson, D.A.; Fagoaga, O.R.; Utter, A.C.; Vinci, D.M.; Davis, J.M.; Nehlsen-Cannarella, S.L. Change in Salivary IgA Following a Competitive Marathon Race. *Int. J. Sports Med.* **2002**, *23*, 69–75. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Mortatti, A.L.; Moreira, A.; Aoki, M.S.; Crewther, B.T.; Castagna, C.; de Arruda, A.F.S.; Filho, J.M. Effect of Competition on Salivary Cortisol, Immunoglobulin A, and Upper Respiratory Tract Infections in Elite Young Soccer Players. *J. Strength Cond. Res.* **2012**, *26*, 1396–1401. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Sari-Sarraf, V.; Reilly, T.; Doran, D.A. Salivary IgA Response to Intermittent and Continuous Exercise. *Int. J. Sports Med.* **2006**, *27*, 849–855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Moreira, A.; Arsati, F.; Cury, P.R.; Franciscan, C.; de Oliveira, P.R.; de Araújo, V.C. Salivary Immunoglobulin a Response to a Match in Top-Level Brazilian Soccer Players. *J. Strength Cond. Res.* **2009**, *23*, 1968–1973. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Nehlsen-Cannarella, S.L.; Nieman, D.C.; Fagoaga, O.R.; Kelln, W.J.; Henson, D.A.; Shannon, M.; Davis, J.M. Saliva Immunoglobulins in Elite Women Rowers. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2000**, *81*, 222–228. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Neville, V.; Gleeson, M.; Folland, J.P. Salivary IgA as a Risk Factor for Upper Respiratory Infections in Elite Professional Athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2008**, *40*, 1228–1236. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Crewther, B.T.; Heke, T.; Keogh, J.W.L. The Effects of Training Volume and Competition on the Salivary Cortisol Concentrations of Olympic Weightlifters. *J. Strength Cond. Res.* **2011**, *25*, 10–15. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Moreira, A.; Franchini, E.; de Freitas, C.G.; Schultz de Arruda, A.F.; de Moura, N.R.; Costa, E.C.; Aoki, M.S. Salivary Cortisol and Immunoglobulin A Responses to Simulated and Official Jiu-Jitsu Matches. *J. Strength Cond. Res.* **2012**, *26*, 2185–2191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. de Arruda, A.F.S.; Aoki, M.S.; Drago, G.; Moreira, A. Salivary Testosterone Concentration, Anxiety, Perceived Performance and Ratings of Perceived Exertion in Basketball Players during Semi-Final and Final Matches. *Physiol. Behav.* **2019**, *198*, 102–107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Walsh, N.P.; Laing, S.J.; Oliver, S.J.; Montague, J.C.; Walters, R.; Bilzon, J.L.J. Saliva Parameters as Potential Indices of Hydration Status during Acute Dehydration. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2004**, *36*, 1535–1542. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Walsh, N.P.; Montague, J.C.; Callow, N.; Rowlands, A.V. Saliva Flow Rate, Total Protein Concentration and Osmolality as Potential Markers of Whole Body Hydration Status during Progressive Acute Dehydration in Humans. *Arch. Oral Biol.* **2004**, *49*, 149–154. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Benzie, I.F.; Strain, J.J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* **1996**, *239*, 70–76. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Wang, D.; Feng, J.-F.; Zeng, P.; Yang, Y.-H.; Luo, J.; Yang, Y.-W. Total Oxidant/Antioxidant Status in Sera of Patients with Thyroid Cancers. *Endocr. Relat. Cancer* **2011**, *18*, 773–782. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Bradford, M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* **1976**, *72*, 248–254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Field, A. *Discovering Statistics Using IBM SPSS Statistics*, 4th ed.; SAGE: London, UK, 2013; ISBN 978-1-4462-4917-8.

40. Faul, F.; Erdfelder, E.; Lang, A.-G.; Buchner, A. G*Power 3: A Flexible Statistical Power Analysis Program for the Social, Behavioral, and Biomedical Sciences. *Behav. Res. Methods* **2007**, *39*, 175–191. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Cohen, J. Chapter 8. The Analysis of Variance and Covariance. In *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences*; Routledge Academic: New York, NY, USA, 1988; pp. 273–406.
42. Hopkins, W.G.; Marshall, S.W.; Batterham, A.M.; Hanin, J. Progressive Statistics for Studies in Sports Medicine and Exercise Science: *Med. Sci. Sports Exerc.* **2009**, *41*, 3–13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Gleeson, M. Mucosal Immunity and Respiratory Illness in Elite Athletes. *Int. J. Sports Med.* **2000**, *21* (Suppl. S1), S33–S43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Nieman, D.C.; Dumke, C.I.; Henson, D.A.; McAnulty, S.R.; McAnulty, L.S.; Lind, R.H.; Morrow, J.D. Immune and Oxidative Changes during and Following the Western States Endurance Run. *Int. J. Sports Med.* **2003**, *24*, 541–547. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Fahlman, M.M.; Engels, H.J.; Morgan, A.L.; Kolokouri, I. Mucosal IgA Response to Repeated Wingate Tests in Females. *Int. J. Sports Med.* **2001**, *22*, 127–131. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Blannin, A.K.; Robson, P.J.; Walsh, N.P.; Clark, A.M.; Glennon, L.; Gleeson, M. The Effect of Exercising to Exhaustion at Different Intensities on Saliva Immunoglobulin A, Protein and Electrolyte Secretion. *Int. J. Sports Med.* **1998**, *19*, 547–552. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Koch, A.J.; Wherry, A.D.; Petersen, M.C.; Johnson, J.C.; Stuart, M.K.; Sexton, W.L. Salivary Immunoglobulin A Response to a Collegiate Rugby Game. *J. Strength Cond. Res.* **2007**, *21*, 86–90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Tharp, G.D. Basketball Exercise and Secretory Immunoglobulin A. *Eur. J. Appl. Physiol.* **1991**, *63*, 312–314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Tomasi, T.B.; Trudeau, F.B.; Czerwinski, D.; Erredge, S. Immune Parameters in Athletes before and after Strenuous Exercise. *J. Clin. Immunol.* **1982**, *2*, 173–178. [[CrossRef](#)]
50. Walsh, N.P.; Blannin, A.K.; Clark, A.M.; Cook, L.; Robson, P.J.; Gleeson, M. The Effects of High-Intensity Intermittent Exercise on Saliva IgA, Total Protein and Alpha-Amylase. *J. Sports Sci.* **1999**, *17*, 129–134. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Schipper, R.G.; Silletti, E.; Vingerhoeds, M.H. Saliva as Research Material: Biochemical, Physicochemical and Practical Aspects. *Arch. Oral Biol.* **2007**, *52*, 1114–1135. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Gleeson, M. *Immune Function in Sport and Exercise*; Elsevier Health Sciences: Amsterdam, The Netherlands, 2006; ISBN 978-0-443-10118-2.
53. Fahlman, M.M.; Engels, H.-J. Mucosal IgA and URTI in American College Football Players: A Year Longitudinal Study. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2005**, *37*, 374–380. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Gleeson, M.; Pyne, D.B. Special Feature for the Olympics: Effects of Exercise on the Immune System: Exercise Effects on Mucosal Immunity. *Immunol. Cell Biol.* **2000**, *78*, 536–544. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Novas, A.M.P.; Rowbottom, D.G.; Jenkins, D.G. Tennis, Incidence of URTI and Salivary IgA. *Int. J. Sports Med.* **2003**, *24*, 223–229. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Beneke, R.; Leithäuser, R.M.; Ochentel, O. Blood Lactate Diagnostics in Exercise Testing and Training. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2011**, *6*, 8–24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.