



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA
UNIDAD ALIMENTARIA DE CALIDAD Y SALUD
Dpto. de Ingeniería de Alimentos y del Equipamiento Agrícola
Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
Pº Alfonso XIII, 48. 30203 Cartagena. Murcia. España
www.upct.es/gpostref



**CONTRATO DE INVESTIGACIÓN ENTRE LA EMPRESA GRUPO
FASHION (AGF) Y LA UPCT SOBRE “RESPUESTA AL EJERCICIO DE
CARRERA DE MEDIA MARATÓN VALORANDO EL DAÑO MUSCULAR Y
RENDIMIENTO TRAS LA INGESTA DE ZUMO DE SANDÍA FASHION”**

EQUIPO DE INVESTIGACIÓN:

Dra. Encarna Aguayo Giménez (Investigador Principal)
Dra. Ascensión Martínez Sánchez
Dr. Jacobo Ángel Rubio Arias
Dr. Domingo Jesús Ramos Campo

CARTAGENA, FEBRERO DE 2016

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	4
1.1. ALIMENTOS FUNCIONALES	6
1.2. COMPUESTOS BIOACTIVOS EN EL ZUMO DE SANDÍA	7
1.3. L-CITRULINA EN EL ORGANISMO	7
1.3.1.L-CITRULINA COMO PRECURSOR DE L-ARGININA	8
1.3.2.L-CITRULINA: INTERMEDIARIO METABÓLICO EN EL CICLO DE LA UREA	10
1.3.3. L-CITRULINA MALATO	11
1.4. L-CITRULINA EN EL RENDIMIENTO DEPORTIVO	12
1.4.1. METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE EL EJERCICIO FÍSICO	12
1.4.2.PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DURANTE EL EJERCICIO FÍSICO	13
2. INTERÉS Y OBJETIVOS	17
3. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. VOLUNTARIOS	20
3.2. ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS	21
3.2.1. CARACTERIZACIÓN DE LAS BEBIDAS	21
3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL	24
3.4. RENDIMIENTO EN SALTO	25
3.5. PERCEPCIÓN SUBJETIVA DEL ESFUERZO (RPE) Y DOLOR MUSCULAR DE INICIO TARDÍO (DOMS)	26
3.6. ANÁLISIS BIOQUÍMICO	28
3.6.1. ARGININA	28
3.6.2. ENZIMAS RELACIONADAS CON EL DAÑO MUSCULAR	29
3.6.3. OTROS MARCADORES BIOQUÍMICOS RELACIONADOS CON EL DAÑO MUSCULAR	29
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
4.1. EFECTO DEL ZUMO DE SANDÍA ENRIQUECIDO EN L-CITRULINA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL	32
4.2. EFECTO DEL ZUMO DE SANDÍA ENRIQUECIDO EN L-CITRULINA EN EL RENDIMIENTO DEPORTIVO	33

4.3. EFECTO DEL ZUMO DE SANDÍA ENRIQUECIDO EN L-CITRULINA EN LA BIOQUÍMICA	39
5. CONCLUSIONES GENERALES	56
6. BIBLIOGRAFÍA	58
7. ANEXOS	66
7.A. COMITÉ DE BIOÉTICA	67
7.B. TRÍPTICO	68
7.C. CONSENTIMIENTO INFORMADO	70
7.D. CUESTIONARIO DE SALUD Y ENTRENAMIENTO	72
7.E. PAUTAS/SUGERENCIAS DE ENTRENAMIENTO Y NUTRICIONALES A TENER EN CUENTA PARA AFRONTAR UNA COMPETICIÓN	73
7.F. REGISTRO DE ENTRENAMIENTO	74

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, existe una demanda por parte de los consumidores por alimentos con propiedades saludables, forzando a las industrias hacia un continuo proceso de innovación y diversificación dirigido a la obtención de bebidas funcionales lo cual les ha impulsado a no perder la oportunidad que les brinda este nuevo segmento del mercado, con la elaboración de nuevos productos. Los factores para el desarrollo de los alimentos funcionales en España son el interés del consumidor por la nutrición, el envejecimiento de la población, los cambios tanto sociales como en los estilos de vida, así como, el incremento del poder adquisitivo del consumidor. Todos estos factores ayudan a que el mercado de los alimentos funcionales se mantenga al alza. En España, se comercializan actualmente unos 200 tipos de alimentos funcionales, como por ejemplo zumos a los que se les ha añadido vitaminas, minerales, fibra, etc., cereales con fibra y minerales, o leches enriquecidas con calcio, ácidos grasos omega-3, etc. Todo esto expresado en números se traduce en que aproximadamente un 69% de los hogares españoles han comprado alguna vez este tipo de productos, mientras que en los hogares estadounidenses esta cifra llega hasta el 80%. Por otro lado, el consumo habitual de estos productos es de un 40 % tanto en los hogares españoles como estadounidenses, moviendo este mercado 100.000 millones de euros anuales, un 40% en EEUU y un 25% en la Unión Europea (Murcia, 2013).

Los zumos de frutas se han configurado como una alternativa útil para complementar las recomendaciones dietéticas sobre el consumo diario de frutas y verduras (Paterson et al., 2006). El zumo es un producto que goza de unas importantes propiedades nutritivas por su contenido en vitaminas, minerales y muchos otros elementos, además de cumplir una importante función en cuanto a la hidratación en todas las edades. Los zumos y néctares son una forma fácil y sencilla de consumir "fruta lista para beber" con todos los beneficios nutricionales. Pueden ser considerados alimentos funcionales naturales, ya que además de su propia composición nutricional, poseen componentes beneficiosos para la salud (Bertsias et al., 2005). Entre estos, el zumo de sandía tiene un hueco destacable en este mercado, siendo su demanda cada vez mayor debido no sólo a sus propiedades

sensoriales, sino al contenido en compuestos antioxidantes como el licopeno y actualmente se ha reconocido el valor añadido del aminoácido no esencial L-citrulina (Mandel et al., 2005).

1.1. ALIMENTOS FUNCIONALES

El origen de los alimentos funcionales surgió en Japón a comienzos de 1980, cuando el gobierno presionado por reducir el gasto sanitario, financió varios proyectos de investigación con el objetivo de estudiar las relaciones entre la medicina y la alimentación, para poder garantizar un buen nivel de vida a la población. En 1991, se estableció una categoría de alimentos potencialmente beneficiosos, denominados “alimentos de uso específico para la salud” (‘Foods for Specific Health Use’, FOSHU).

Para ser considerado un alimento FOSHU es necesario demostrar que el producto alimenticio final y no sus componentes individuales aislados, ejerce un efecto saludable sobre el organismo cuando se consume como parte de una dieta equilibrada. Goldberg (1994) definió como alimento funcional aquel alimento o ingrediente alimentario que adicionalmente a su valor nutricional tiene un impacto beneficioso sobre las funciones fisiológicas al mejorar el estado de bienestar y salud, y reducir el riesgo de enfermedad.

En Europa, durante los años 1995 a 1999, debido al creciente interés en el concepto de los "Alimentos Funcionales" y en las "Alegaciones de Salud", la Unión Europea ha creado una Comisión Europea de Acción Concertada sobre Bromatología Funcional en Europa (Functional Food Science in Europe, FUFOSE). El programa ha sido coordinado por el Instituto Internacional de Ciencias Biológicas (International Life Sciences Institute (ILSI) Europe), y su objetivo es desarrollar y establecer un enfoque científico sobre las pruebas que se necesitan para respaldar el desarrollo de productos alimenticios que puedan tener un efecto beneficioso sobre una función fisiológica del cuerpo y mejorar el estado de salud y bienestar de un individuo y/o reducir el riesgo de que desarrolle enfermedades. El proyecto FUFOSE se centró en seis áreas de la ciencia y la salud: crecimiento, desarrollo y diferenciación, metabolismo, defensa contra especies oxidativas reactivas, alimentos

funcionales y el sistema cardiovascular, fisiología y función gastrointestinal, y los efectos de los alimentos o comportamiento y efecto psicológico.

1.2. COMPUESTOS BIOACTIVOS EN EL ZUMO DE SANDÍA

La sandía es una fruta que contiene un 91% de agua, con pequeñas cantidades de proteínas, grasas, minerales y vitaminas (USDA, 2010). La sandía es una fruta pobre en compuestos fenólicos y vitamina C (Perkins-Veazie et al., 2001), pero es una fuente importante de licopeno y L-citrulina (Rimando y Perkins-Veazie, 2005). El licopeno es un compuesto bioactivo perteneciente a la familia de los carotenoides, el cual tiene una importante capacidad antioxidante y se le han atribuido efectos beneficiosos como reducir la incidencia de enfermedades coronarias del corazón y algunos cánceres como el de próstata y riñón (Chen et al., 2001; Edwards et al., 2003; Mandel et al., 2005; Perkins-Veazie et al., 2006). Por otro lado, el aminoácido citrulina se aisló por primera vez en 1930 (Curis et al., 2005) y su nombre procede del nombre sandía en latín (*Citrullus vulgaris*). L-citrulina es un aminoácido no esencial, precursor del aminoácido esencial L-arginina (Collins et al., 2007), con propiedades antioxidantes y promueve la generación de óxido nítrico, atribuyéndosele propiedades como cardioprotector y otras propiedades beneficiosas frente a aterosclerosis, disfunciones eréctiles, así como mejorar el rendimiento en deportistas (Balon et al., 1997; Ikeda et al., 2000; Drewers et al., 2003).

En el presente estudio utilizaremos un zumo de sandía en el que su “funcionalidad” residirá en el contenido en L-citrulina.

1.3. L-CITRULINA EN EL ORGANISMO

La citrulina es un aminoácido no proteico sintetizado en la mucosa intestinal (duodeno-yeyuno) a partir de la glutamina y otros derivados (Fig. 1). La síntesis entérica de citrulina requiere ornitina y

carbamil fosfato, que pueden ser aportados por la glutamina de la dieta. Su degradación se produce en el riñón, concretamente en los túbulos renales proximales, de forma que el 83% de la citrulina plasmática se convierte en arginina (Windmueller et al., 1981). Por tanto, la síntesis y degradación de citrulina en el organismo es importante como indicador de enfermedades digestivas, debido a que se sintetiza exclusivamente por el intestino. La citrulina plasmática ha sido identificada como un biomarcador sensible y específico de la masa y funcionalidad de los enterocitos (Crenn et al., 2008) y siendo el riñón el principal órgano de metabolización, la insuficiencia renal se asociará a deterioro en el metabolismo de citrulina.

1.3.1. L-citrulina como precursor de L-arginina

En los últimos años, la L-citrulina ha despertado un especial interés por ser un precursor de la biosíntesis de L-arginina, el cual es un aminoácido semiesencial o condicionalmente esencial, con importantes funciones fisiológicas. La L-arginina además de las funciones relacionadas directamente con su metabolismo (formación de péptidos y proteínas, funcionamiento del ciclo de la urea, síntesis de creatina, prolina, poliaminas, etc), parece desempeñar otras funciones fisiológicas importantes. Así, este aminoácido es capaz de estimular la secreción de diversas hormonas, como insulina, glucagón, catecolaminas, prolactina y hormona de crecimiento, lo que podría ayudar a comprender el efecto beneficioso de la suplementación con L-arginina a la dieta de los pacientes en situaciones catabólicas. Osowska et al., (2004) demostraron en estudios in vivo con ratas que la nutrición enteral, enriquecida con citrulina (1 g/kg/día), generaba altas cantidades de arginina en diversos tejidos restaurándose totalmente el balance nitrogenado en el organismo, es decir, la diferencia entre el nitrógeno ingerido y el excretado.

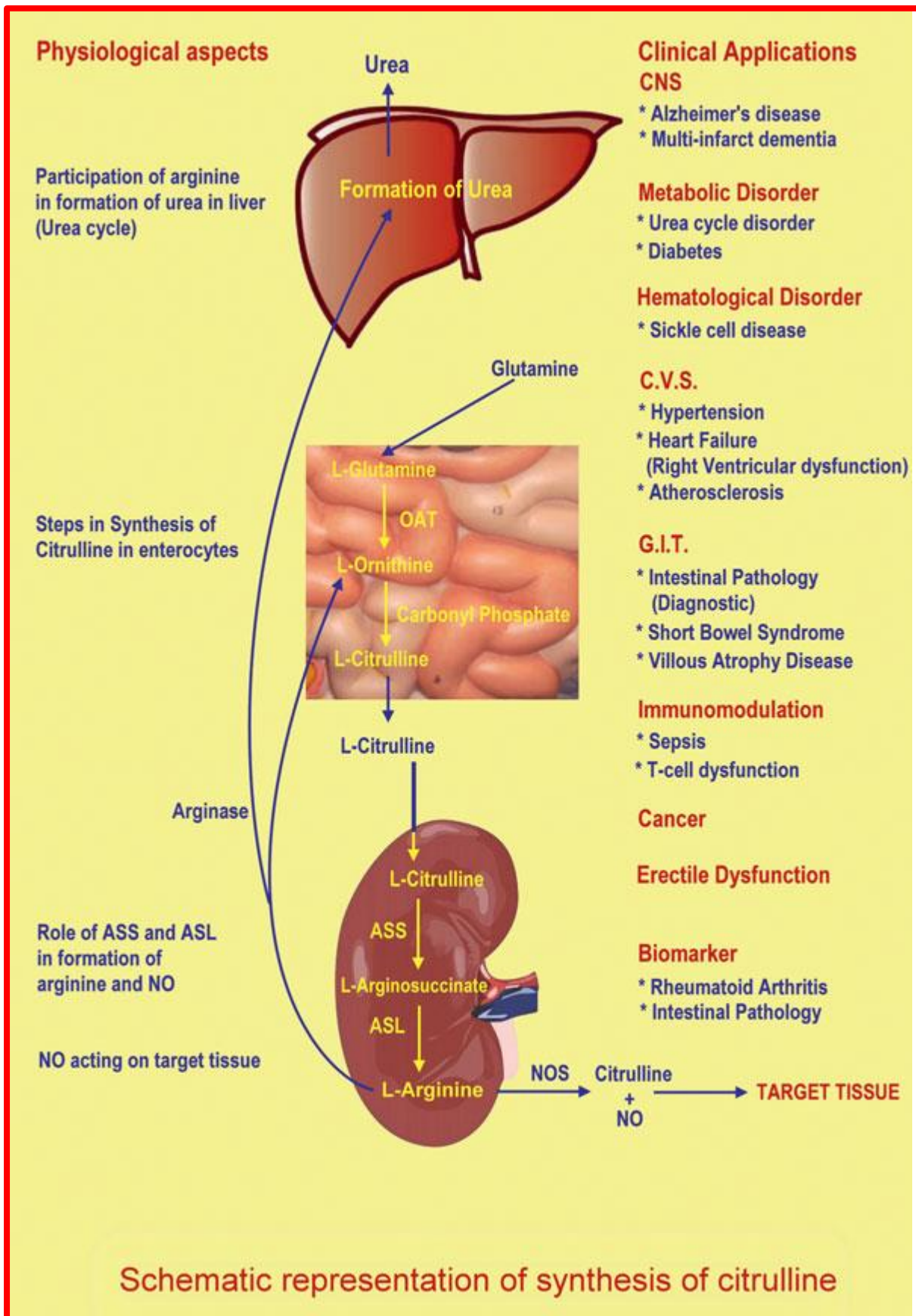
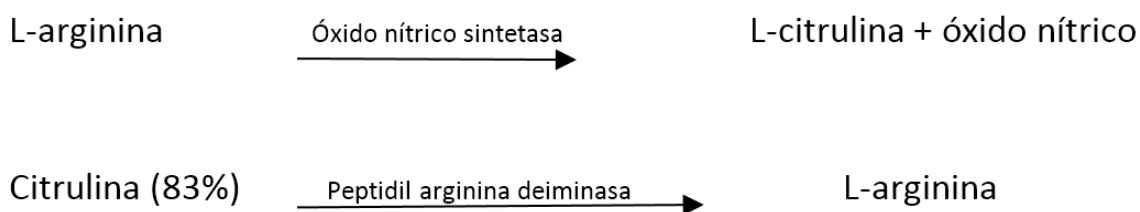


Fig 1. Representación esquemática de la síntesis de citrulina en el organismo (Kaore et al., 2013).

Otro aspecto importante del aminoácido L-citrulina es la generación indirecta de óxido nítrico. Collins et al. (2007), demostraron que el consumo de sandía era eficaz para aumentar los niveles plasmáticos de L-arginina y mediante la conversión de L-arginina en L-citrulina gracias a la enzima óxido nítrico sintasa se produce óxido nítrico (Curis et al., 2005). El óxido nítrico es un componente importante en la respuesta y presencia sostenida del sistema inmunológico, regulación del flujo sanguíneo y cicatrización de heridas, y concretamente en el endotelio vascular tiene acción vasodilatadora, antiaterogénica y antiagregante plaquetaria (Waugh et al., 2001, Martínez-Augustín y Sánchez de Medina., 2004). Además, ésta acción vasodilatadora del óxido nítrico puede mejorar el rendimiento en deportistas y disminuir el dolor muscular de efecto tardío (Tarazona-Díaz et al., 2013a).



1.3.2. L-citrulina: intermediario metabólico del ciclo de la urea

Concretamente L-citrulina es un aminoácido no proteico intermediario del ciclo de urea, el cual es un conjunto de seis reacciones metabólicas encaminadas a la eliminación del excedente del ión amonio que se forma en la degradación de los aminoácidos y otros compuestos nitrogenados. Mediante el ciclo de la urea se realiza además la biosíntesis y degradación de arginina. El hígado es el único órgano en donde la ureagénesis es completa, y cuantitativamente importante. En cuanto a la distribución tisular de citrulina, el ciclo de urea hepático es una vía metabólica no relacionada con otras vías, porque toda la citrulina sintetizada en la mitocondria del hepatocito es convertida en el citoplasma en otros productos del ciclo de la urea, sin que exista ninguna liberación a la circulación sanguínea (Curis et al., 2005).

1.3.3. L-citrulina malato

En la actualidad el aminoácido L-citrulina está comercializado como medicamento con el nombre de Stimol® solución oral; siendo el principio activo citrulina malato (CM). Éste fármaco tiene indicación terapéutica en el alivio sintomático de los estados de astenia funcional por carencia del aminoácido citrulina. El malato es un intermediario del ciclo de krebs, facilitando los procesos metabólicos de carácter aeróbico, con producción de energía (moléculas de ATP) y facilita la recuperación de la fatiga muscular después del ejercicio físico (Bendahan et al., 2002).

La utilización metabólica de las proteínas como fuente de energía para sustentar una actividad física intensa está limitada por la toxicidad del ión amonio (NH_4^+) y la necesidad de eliminarlo en forma de urea. Tras el ejercicio físico hay un aumento del ión amonio en el músculo, el cual es transportado en forma de alanina o glutamina del músculo hasta el hígado donde es eliminado como urea mediante el ciclo de la urea (Cordova et al., 2005b).

Estudios realizados tanto en humanos como en animales, han demostrado que los suplementos de CM estimulan la ureagénesis hepática y favorecen la reabsorción renal de bicarbonato. Estas acciones metabólicas confieren un “efecto protector” contra la acidosis metabólica y la acumulación de ión amonio, y puede explicar la propiedad de CM a la resistencia a la fatiga muscular (Callis, 1991). En este sentido, Pérez-Guisado et al. (2010), demostraron que la administración de CM en humanos mejoraba el rendimiento deportivo anaeróbico; debido a que la citrulina como intermediario del ciclo de la urea, acelera la rotación de dicho ciclo y por tanto facilita la eliminación o aclaramiento del ión amonio (NH_4^+).

Otras experiencias de suplementos de citrulina son los realizados con ciclistas semi-profesionales (Córdova et al., 2005) quienes demostraron que la suplementación con citrulina puede facilitar el funcionamiento del ciclo de urea durante y después de un ejercicio intenso, facilitando la utilización

energética de las proteínas; así como favorecer la síntesis de óxido nítrico y facilitar la oxigenación del tejido hipóxico durante un periodo de tiempo prolongado.

1.4. L-CITRULINA EN EL RENDIMIENTO DEPORTIVO

1.4.1. Metabolismo energético durante el ejercicio físico

En cuanto al ejercicio físico, funcionalmente existen dos tipos de fibras musculares esqueléticas, las fibras musculares tipo I, rojas o de contracción lenta y las fibras musculares tipo II, blancas o de contracción rápida. La diferencia entre estos dos tipos de fibras es fundamentalmente metabólica, ya que las de tipo I son oxidativas y las de tipo II son glucolíticas. En relación a la energía, los sustratos bioenergéticos dependen del tipo, la intensidad y la duración del ejercicio (Wells et al., 2009; Mcardle et al., 2004).

El sistema oxidativo aeróbico es utilizado para actividades de mayor duración, de una intensidad baja a moderada. El sistema anaeróbico glucolítico es utilizado para actividades de corta a moderada duración de mayor intensidad, y el sistema del fosfato de alta energía es utilizada para actividades de corta duración y de gran intensidad. La eficiencia y la efectividad de estas vías pueden mejorar a través de la actividad física y el entrenamiento (Mcardle et al., 2004; Wells et al., 2009).

Los ejercicios aeróbicos son de baja intensidad y larga duración, dentro de éste grupo se incluirían las carreras de media maratón y maratón. En éste tipo de ejercicios la energía proviene de tres fuentes diferentes: la más inmediata es la del sistema ATP-fosfocreatina, la cual dura solo unos segundos, mientras que la fuente de energía principal en este tipo de deportes es la del sistema aeróbico, proveniente de la degradación de carbohidratos, grasas y proteínas, la cual es a largo plazo. Finalmente, en situaciones de anaerobiosis domina la tercera fuente de energía proveniente del sistema ácido láctico, sobreviniendo la fatiga y el cansancio muscular. Este es el motivo por el cual el ejercicio físico genera cambios metabólicos a nivel muscular, cambios que son limitantes en el rendimiento deportivo. Junto con la depleción de sustratos (glucógeno muscular) o el deficiente aporte de oxígeno, la

acumulación del ión amonio y de lactato, son factores determinantes en la aparición de la fatiga muscular (Cordova et al., 2005a). La acumulación de ión amonio activa a la enzima fosfofructoquinasa (PFK) y con esto se aumenta la tasa de glucólisis anaeróbica, como consecuencia de ello se bloquea la utilización aeróbica de piruvato e impide su reciclaje en la gluconeogénesis; todo ello se traduce en la desviación del metabolismo energético hacia la producción y acumulación de lactato en tejidos musculares produciendo fatiga y dolor muscular (Cutrufello et al., 2014).

En general, según los planteamientos anteriores, se puede determinar que existe una relación inversa entre los niveles de lactato y las concentraciones de citrulina durante el ejercicio. Según los resultados de estudios realizados en piragüistas los suplementos con citrulina pueden ser beneficiosos en deportes o acciones donde el metabolismo anaeróbico láctico va a ser determinante para el rendimiento deportivo (Cordova et al., 2005a).

La suplementación con citrulina puede mejorar el rendimiento deportivo, en primer lugar, impidiendo la acumulación de lactato y en segundo lugar, favoreciendo la eliminación del excedente del ión amonio procedente de la utilización energética de proteínas a través del ciclo de la urea.

1.4.2. Parámetros bioquímicos durante el ejercicio físico

Los parámetros bioquímicos determinados mediante análisis de laboratorio, sirven como biomarcadores que permiten saber qué está pasando en los músculos activos mediante un método no invasivo. El objetivo principal del control bioquímico del entrenamiento es ayudar a los deportistas, a conseguir el rendimiento máximo y evitar el sobre-entrenamiento o fatiga crónica (Hagerman et al., 1984; Hug et al., 2003). Debido a que la concentración de los sustratos energéticos estructurales y reguladores empleados durante el ejercicio físico cambia en función de la intensidad relativa y duración del ejercicio, así como en función de los depósitos iniciales de dichos sustratos, la variación de la concentración de los sustratos metabólicos se podría utilizar para el análisis de la adaptación del organismo al entrenamiento (Manetta et al., 2000).

La valoración enzimática resulta de gran interés para el control del entrenamiento, ya que además de aportarnos información de la utilización de ciertas rutas metabólicas también aportan información sobre la destrucción muscular durante la actividad deportiva y poder determinar así el carácter del esfuerzo. Existen evidencias que indican que la contracción del músculo induce daño y dolor muscular (mayor rotura miofibrilar) por la salida de proteínas a la circulación sistémica (proteólisis) (Sharp et al., 2010). Las enzimas creatinquinasa (CPK) y lactato deshidrogenasa (LDH) son enzimas relacionadas con la destrucción miofibrilar a nivel musculo-esquelético o proteólisis (Urdampilleta et al., 2013).

a) Creatina quinasa (CPK): Es una enzima clave en el sistema de los fosfágenos, específicamente del sistema ATP-fosfocreatina, el cual es una vía metabólica que aporta energía (resíntesis de ATP) de forma inmediata, por lo tanto predomina en esfuerzos físicos de alta intensidad y corta duración, como es el levantamiento de pesas, los lanzamientos, saltos y sprints, entre otros (Conley, 2007). El valor de CPK es un parámetro cada vez más demandado para el control y valoración de la respuesta a los entrenamientos, al estar relacionado con fenómenos de destrucción muscular, además de ser un posible marcador de sobre-entrenamiento (Hartmann et al., 2000). La aparición de CPK en la circulación sanguínea indica el daño muscular producido por el entrenamiento, apareciendo los valores más elevados horas después del mismo, y si los valores permanecen por encima del rango pueden indicar un estado de sobre-entrenamiento. La CPK tiene una estructura dimensional compuesta por dos subunidades M y B, que se combinan para formar tres isoenzimas específicas para diferentes tejidos:

- 1) de origen cerebral o 1 (CPK-BB)
- 2) cardíaca o 2 (CPK-MB)
- 3) músculo esquelética o 3 (CPK-MM).

En los valores de CPK, se obtiene un valor absoluto de todas.

b) Lactato Deshidrogenasa (LDH): La enzima LDH es un tetrámero de 2 polipéptidos llamados M (por “músculo”) y H (por “heart”, “corazón”). Estas subunidades se combinan para formar 5 isoenzimas.

La LDH1 (H4) y la LDH2 (H3M) predominan en el corazón, músculo no esquelético, eritrocitos, el sistema retículo endotelial y leucocitos, y se cree que favorecen la formación de piruvato a partir de lactato; mientras que LDH4 (HM3) y LDH5 (M4) predominan en riñones, placenta, páncreas, hígado y músculo esquelético (Thorstensson et al., 1977). Se ha descrito que la subunidad M de la LDH predomina en las fibras tipo II, por lo que los deportistas que tienen más fibras de tipo II (rápidas), podrán alcanzar valores más altos en esta enzima, así como la máxima producción de lactato. Se calcula que aproximadamente un 50-60% del lactato producido es metabolizado en el hígado, donde se difunde libremente a través de la membrana celular del hepatocito y se transforma de inmediato en piruvato a través de la reacción LDH dependiente. En éste caso, la utilización de esta vía, aumentará los niveles de LDH en sangre, ya que participa en la reutilización del lactato. Aproximadamente el 20% del lactato producido durante el ejercicio se oxida a piruvato. El lactato se produce como resultado de la anaerobiosis celular, por lo que en deportes más anaerobios, aumentará en mayor medida los valores de LDH (Juel et al., 1997).

c) Aminotransferasas: Aspartato-Aminotransferasa o Glutamato-Oxalacetato transaminasa (AST o GOT) y Alanina-Aminotransferasa o Glutamato-Piruvato transaminasa (ALT o GPT); además de ser enzimas hepáticas tienen relación con la actividad muscular. El hígado, al ser un órgano vital en el intercambio de energía y realizar múltiples funciones de detoxificación de sustancias, va a verse claramente influido por el efecto del ejercicio físico. La principal alteración hepática que se observa en un individuo que realiza ejercicio físico es un aumento de las aminotransferasas (Harrington et al., 2000). La enzima que según todos los estudios se modifica más ampliamente es la AST ya que, al hallarse presente en otros muchos órganos, no ha servido inicialmente para diferenciar el origen de su procedencia, ya sea muscular o hepática. La ALT es más específica para indicar daño hepático, sufriendo modificaciones con el ejercicio físico pero en menor medida y siempre acompañándose del aumento de la AST y la CK. Por ello, algunos autores sugieren que pueden utilizarse como posibles indicadores de la destrucción muscular aunque el más específico sea el CK (Mena et al., 1988).

Entre los marcadores bioquímicos sanguíneos, además de los niveles plasmáticos de las enzimas anteriormente descritas relacionadas con el daño muscular, destacan las concentraciones de algunos metabolitos. Algunos de estos metabolitos son utilizados como sustratos de energía (colesterol, triglicéridos, y la glucosa), otros ayudan a suministrar la energía (ferritina, mioglobina y creatinina) y otros son productos del gasto de esa energía (lactate, urea, ácido úrico). Además, La proteína C reactiva es una proteína de fase aguda que ha sido clásicamente considerada como un marcador de inflamación. Bajo condiciones normales, su síntesis hepática es menor a 1 mg/L, la cual se ve incrementada en una persona que desarrolla un proceso inflamatorio o infeccioso. Esta elevación puede ser hasta de 100 veces el valor normal durante las primeras 24 a 48 horas y se mantiene así por varios días.

2. INTERÉS Y OBJETIVOS

2. INTERÉS Y OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio *in vivo* se centra en evaluar la funcionalidad del zumo de sandía enriquecido con L-citrulina en la mejora del rendimiento físico y posterior recuperación en deportistas, en concreto, en corredores de fondo de media maratón. Se realizó un estudio con 21 voluntarios varones corredores de media maratón para comparar el efecto de un zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina (3 g) respecto de un bebida exento de L-citrulina (placebo) en dos carreras de media maratón separadas en el tiempo de 15 días. Para la evaluación del zumo funcional 2 horas antes de comenzar la primera media maratón, de forma aleatoria la mitad de los deportistas ingirieron zumo de sandía Fashion (500 mL) enriquecido en L-citrulina (3 g) y la otra mitad ingirieron un placebo (500 mL) exento de L-citrulina. En la segunda media maratón, los deportistas ingirieron 2 horas antes de su comienzo la bebida que no ingirieron en la primera carrera. De esta forma, tras haber realizado las dos medias maratones para completar el estudio en cada sujeto se había testado cada una de las bebidas.

La funcionalidad del zumo se determinó mediante parámetros físicos de rendimiento (tiempo en cada media maratón, frecuencia cardíaca durante la carrera y salto vertical antes y después de cada carrera), análisis de enzimas relacionadas con daño muscular y otros parámetros bioquímicos, así como, la percepción subjetiva del esfuerzo y escalas de dolor muscular al finalizar el ejercicio, a las 24, 48 y 72 h.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo de investigación se ha realizado por miembros de la Unidad de Calidad Alimentaria y Salud del Instituto de Biotecnología Vegetal de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica (ETSIA) de la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT) y miembros del Departamento de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte de la Universidad Católica de Murcia (UCAM).

3.1. VOLUNTARIOS

Para la captación de voluntarios se difundió un tríptico (**anexo 7B**) dónde se les informaba del estudio y de los criterios de inclusión: sujetos varones entre 18-45 años de edad, no haber tenido ninguna lesión muscular los seis meses previos al estudio, no tener hábitos o patologías que descendieran la producción de óxido nítrico y no consumir suplementos (aminoácidos ramificados, proteínas, L-arginina, L-citrulina). Como criterios de selección se les exigía que tuvieran experiencia en el entrenamiento de resistencia y en competiciones de media maratón.

A los voluntarios seleccionados y, antes de comenzar el estudio, se les informó del procedimiento experimental, los riesgos y beneficios asociados al estudio y firmaron un consentimiento informado siguiendo la declaración de Helsinki (**anexo 7A**) y la aprobación por el comité de ética de la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT) (**anexo 7C**). Posteriormente los sujetos rellenaron un cuestionario de salud y de entrenamiento (**anexo 7D**) y se les midió las variables antropométricas básicas (**Tabla 1**).

Tabla 1. Características generales de los sujetos.

Variables antropométricas básicas		Entrenamiento	
Edad (años)	35,3 ± 11,4	Días por semana	5,1 ± 1,5
Peso (Kg)	73,6 ± 9,1	Horas a la semana	9,8 ± 1,4
Estatura (cm)	175,5 ± 7,6	Minutos al día	78,8 ± 12,4
Índice de masa corporal (ICM) (kg m²)	14,1 ± 5,4		

n = 21 ± DE.

A continuación a cada voluntario se le dió unas sugerencias de entrenamiento y nutricionales (**anexo 7E**), así como unas tablas de registro de entrenamiento durante las semanas del estudio (**anexo 7F**).

3.2. ELABORACIÓN DE LAS BEBIDAS

Se evaluó un zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina (3 g de L- citrulina por 500 mL de zumo) respecto de un placebo de similares características sensoriales pero exento de L-citrulina (ver anexo III). El zumo de sandía Fashion fue proporcionado por la empresa AGF. El mismo día de la carrera, en el laboratorio de calidad de la Planta Piloto de la ETSIA-UPCT, 500 mL de dicho zumo comercial se envasó en botellas azules de 500 mL (etiquetada como bebida A) y se enriqueció en 3 g de L-citrulina. El placebo se preparó y envasó en las mismas botellas azules de 500 mL (etiquetada como bebida B) (Foto 1).



Foto 1. Placebo (izquierda) y zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina (derecha). Las diferencias en color no son apreciables tras su embotellado en botellas de color azul.

3.2.1. Caracterización de las bebidas

Las determinaciones realizadas en el zumo funcional de sandía Fashion y el placebo fueron:

- Análisis físico-químico: Sólidos solubles totales, pH, acidez total.
- Análisis de compuestos bioactivos: Contenido en licopeno, L-citrulina.

Análisis físico-químico

La determinación de los sólidos solubles totales (SST) se realizó por lectura refractométrica, utilizando un refractómetro digital Atagopocket PAL-1 (Tokio, Japón) con escala de 0 a 53 °Brix y sensibilidad de 0,1°. Se tomó un volumen de zumo que se vertió en el prisma del refractómetro. El resultado se expresó como °Brix (%SST) a 20°C.

Para determinar el pH de cada una de las muestras de zumo se dispusieron 10 mL en un vaso de 50 mL con un imán de agitación. El pH metro digital (Crison GLP 21, Barcelona, España) cuenta con corrección por temperatura, efectuando todas las mediciones a 20°C (**Figura 2**). La acidez titulable (AT) se expresó en función del ácido málico, ácido predominante en sandía, expresándose en g 100 mL⁻¹. Los valores de AT se obtuvieron por titulación de 5 mL de zumo con NaOH 0,1 N a pH 8,1 (AOAC, 1984). Para ello, se utilizó un titulador automático (Metrohm 716 DMS, Herisau, Suiza) (**Figura 2**).



Foto 2: pH-metro y titulador automático.

Análisis de compuestos bioactivos

El contenido en licopeno se determinó por espectrometría (Hewlet Packard 8453, UV-Vis espectrofotómetro, Waldbronn, Alemania) siguiendo el método de [Fish et al. \(2002\)](#). A 0.5 mL de zumo de sandía se añadieron 5 mL de acetona en butilhidroxitolueno (0.05% p/v, BHT), 5 mL de etanol (95%) y 10 mL de hexano. La mezcla se homogeneizó en un agitador orbital (Stuart, Staffordshire, Reino Unido) durante 15 min a 200 rpm y en oscuridad a 5 °C. Tras la agitación, se añadieron 3 mL de agua MiliQ y se agitaron durante 5 min. Posteriormente, se dejan a temperatura ambiente hasta obtener una separación de fases. Finalmente se determinó la absorbancia a 503 nm de la capa superior. Se utilizó hexano como blanco y el contenido en licopeno fue calculado siguiendo la siguiente ecuación.

$$\text{Licopeno} = (\Delta_{503}) \times P_m \times FD \times 1000 / \epsilon \times L$$

Donde P_m es el peso molecular del licopeno (536.9 g/mol), FD es el factor de dilución utilizado, L es el ancho de la cubeta expresado en cm y ϵ es el coeficiente de extinción molar del licopeno (172,000 L mol/cm). Todas las mediciones se hicieron por triplicado y se expresaron en mg L⁻¹ peso fresco.

La extracción de citrulina se llevó a cabo según la metodología de [Tarazona-Díaz et al., \(2011\)](#), con pequeñas modificaciones. La muestra de zumo (1 mL) se mezcló con 10 mL de una solución de ácido acético 0.2 M. Seguidamente se agitaron las muestras y se introdujeron en un baño de ultrasonidos durante 5 min y posteriormente se centrifugaron a 21.000 rpm/10 min a 5°C (Beckman Coulter Avantim J-25 Centrifuga, CA, USA). Las muestras fueron filtradas por 0.45 µm (Micron Analítica S.A. Madrid, España) para su análisis por LC/MS.

El análisis de citrulina se realizó según el método descrito por [Özcan y Senyuva \(2006\)](#), para el análisis de aminoácidos libres en alimento sin derivatizar. El análisis se llevó a cabo por cromatografía líquida (LC) de ionización química a presión atmosférica (APCI) y de espectrometría de masa (MS). El LC/MS utilizado fue un Agilent 1100 series HPLC, compuesto por una bomba binaria, un muestreador automático y un horno de columna con control de temperatura, acoplado a un Agilent 1100 series LC/MSD (Tran VL, Waldbronn, Alemania) con detector diodo de array y equipado con una interfaz de ionización química a presión atmosférica. Un volumen de 5 µL de muestra se inyectaron en una columna C-18 (Zorbax SB, 2.1 x 30 mm x 3.5 µm de diámetro, Alemania). Las fases móviles empleadas fueron: el disolvente A (98%) fue una solución de ácido fórmico al 1% con agua ultrapura (Milli-Q) y el disolvente B (2%) fue una solución de 1% de ácido fórmico con acetonitrilo. El gradiente fue isocrático a un flujo de 0,8 mL/min a 30°C. Las muestras y el blanco se midieron entre 190 nm y 320 nm de longitud de onda. El contenido total de citrulina se expresó en g L⁻¹ de peso fresco.

Las características de las dos bebidas se encuentran descritas en la siguiente Tabla 2.

Tabla 2. Características físico-químicas del zumo de sandía fashion enriquecido en L-citrulina respecto al placebo.

Características físico-químicas	Placebo	Zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina
L-Citrulina (g L ⁻¹)	No detectada	6,91 ± 0,21
Licopeno (mg L ⁻¹)	0,06 ± 0,01	13,98 ± 0,65
pH	2,89 ± 0,10	4,29 ± 0,00
Ác. málico (g 100 mL ⁻¹)	0,21 ± 0,00	0,25 ± 0,00
SST (°Brix)	7,30 ± 0,10	9,00 ± 0,10

n = 6 ± SD.

En el zumo de sandía Fashion enriquecido, de los 3,45 g de L-citrulina que ingirieron los sujetos (500 mL), 3 g provenían de la adición externa mientras que 0.45 g correspondían a la citrulina natural del zumo de sandía Fashion.

3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Como se ha puesto de manifiesto anteriormente en las dos medias maratones en las que se realizó el estudio, las dos bebidas (A y B) se suministraron aleatoriamente a cada uno de los sujetos que componían el estudio. Las muestras elaboradas para cada uno de los días del experimento se colocaron dentro de una caja de poliestireno con hielo a 6 ± 2 °C y se transportaron en coche hasta el lugar de la media maratón. En ninguno de los casos, ni los sujetos, ni los investigadores encargados de realizar las valoraciones fueron conocedores de la disolución ingerida en cada ocasión (doble ciego).

La última sesión de entrenamiento se realizó al menos 48 horas antes de la evaluación. A los voluntarios se les recomendaron determinadas pautas de alimentación (no podían ingerir caféina ni alcohol las 24 horas previas a cada sesión de evaluación, ni ingerir sustancias y/o alimentos que pudieran interferir con el estudio), intentando estandarizar la dieta de los voluntarios desde 24 h antes de la carrera hasta las 72 h posteriores a la carrera, pretendiendo así replicar la ingesta en ambas competiciones. Al igual que se intentó que ingirieran la misma cantidad de bebidas isotónicas y agua durante la carrera, prohibiendo la ingesta de bebidas y

alimento al finalizar la carrera hasta la determinación del salto vertical y realización de la analítica.

El día anterior a la primera carrera se realizó un análisis de sangre a cada voluntario con el fin de determinar los niveles basales de las enzimas y parámetros relacionados con el daño muscular y otros parámetros bioquímicos.

Tres horas después de un desayuno o comida estandarizada y dos horas antes del comienzo de la media maratón, cada participante ingirió en orden aleatorio placebo y zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. El tiempo desde la ingesta del zumo al inicio de la prueba fue según lo recomendado por [Mandel et al. \(2005\)](#) quienes observaron que después de 1 y 2 h de ingesta de zumo de sandía aumentaban las condiciones plasmáticas de citrulina y arginina, respectivamente. Después de la ingesta de la bebida los sujetos permanecían una hora en reposo. Media hora antes de la hora de salida, se llevaba a cabo la evaluación de la composición corporal. La composición corporal se analizó mediante un bioimpedanciómetro multifrecuencia octopolar (Tanita BC-601, Tanita Corp, Japan) que fue calibrado con anterioridad a cada sesión de medición según las instrucciones de la empresa. La talla se determinó mediante un tallímetro Seca 700 (Seca Ltd., Germany). Además, se analizó la masa (kg), el índice de masa corporal (kg/m^2), la masa muscular (kg) y la masa grasa (% y kg). Posteriormente, después del calentamiento habitual de cada deportista, se llevó a cabo la medición del rendimiento en salto.

Tras esta evaluación, los participantes realizaron la primera prueba de la media maratón donde recorrieron 21,097 m con 114 metros de desnivel acumulado (62 m de desnivel positivo y 52 m de desnivel negativo). La frecuencia cardíaca fue registrada (Polar RS800; Polar Electro Oy; Kempele, Finland) durante toda la competición.

Inmediatamente después de la competición se evaluó la percepción subjetiva del esfuerzo percibido (RPE, Rate of Percived Exertion). Seguidamente, durante los tres minutos posteriores a la llegada a meta de los participantes, estos realizaron los test de saltos descritos con anterioridad. A continuación, tras cinco minutos de reposo durante los cuales se les realizaba de nuevo el test de composición corporal, se llevaba a cabo una nueva extracción sanguínea a los deportistas siguiendo las instrucciones del protocolo descrito en la analítica basal. Tras la extracción de sangre se evaluó la percepción subjetiva del dolor muscular de inicio tardío (DOMS: Delayed onset muscle soreness). La evolución del DOMS y analítica sanguínea se siguió a las 24, 48 y 72 h tras la media maratón.

Dos semanas después, para permitir la recuperación del deportista entre competiciones y aplicando el mismo protocolo, los voluntarios realizaron la segunda media maratón. En esta ocasión los 21,097 m tuvieron un desnivel de 131 m (61 metros de desnivel positivo y 70 m de desnivel negativo). La temperatura media durante cada una de las pruebas fue de 25.7 ° C en el primer evento y de 24.8 ° C durante la segunda media maratón.

3.4. RENDIMIENTO EN SALTO

La medición del rendimiento en salto se realizó mediante una plataforma de fuerzas (Kistler 9286AA Portable, Kistler, Switzerland) preconfigurada con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz. Los voluntarios, los cuales estaban familiarizados con este tipo de prueba, realizaron dos tipos de saltos: squat jump (SJ) y countermovement jump (CMJ). Los brazos de los sujetos se mantuvieron a la altura de la cintura en todos los intentos para minimizar la contribución de estos en el impulso del salto. Se realizaron tres intentos de cada modalidad de salto con dos minutos de descanso entre cada intento para minimizar el efecto de la fatiga en el rendimiento del salto. En el caso del salto SJ se determinó una posición de partida con 90° de flexión de rodilla y no se permitió efecto de contramovimiento, considerándose nulo cualquier movimiento anómalo detectado por la plataforma y teniendo que repetir el salto. Por otro lado, en el salto CMJ los participantes fueron informados para realizar el salto a la mayor velocidad posible con el objetivo de activar el ciclo estiramiento-acortamiento durante el salto. La altura del salto (h) fue calculada en ambos tipos de salto a través de la velocidad de despegue utilizando la siguiente ecuación: $h = v_i^2 \cdot 2g^{-1}$. El mejor resultado fue utilizado para el análisis.

3.5. PERCEPCIÓN SUBJETIVA DEL ESFUERZO (RPE) Y DOLOR MUSCULAR DE INICIO TARDÍO (DOMS)

La percepción subjetiva del esfuerzo percibido (RPE, Rate of Percived Exertion) se evaluó mediante la escala de percepción de esfuerzo de Borg 6-20 donde 6 indica un ejercicio muy, muy suave y 20 una actividad muy, muy dura (Borg, 1970). Este es un método común para determinar los niveles de intensidad del ejercicio, pese a ser una escala subjetiva ya que determina lo que cada individuo siente que su cuerpo está trabajando (Tabla 3).

Tabla 3. Escala de Borg de la percepción subjetiva del esfuerzo.

Puntuación	Sensación
6	Muy, muy suave
7	
8	
9	Muy suave
10	
11	Bastante suave
12	
13	Algo duro
14	
15	Duro
16	
17	Muy Duro
18	
19	Muy, muy duro
20	

Fuente: Borg (1970)

También fue evaluada la percepción subjetiva del dolor muscular de inicio tardío (DOMS: Delayed onset muscle soreness) (1-5) (Tabla 4). El DOMS también es denominado comúnmente como agujetas (nombre médico: mialgia diferida) se puede definir como un dolor que aparece en los músculos sometidos a esfuerzos horas después de terminar la actividad. Habitualmente aparece entre las 12 y 24 horas posteriores, pero alcanza su pico máximo en las 24-72 horas y desaparece alrededor del cuarto día.

El DOMS afecta no solo a deportistas noveles, sino también a deportistas habituados sobre todo cuando se cambia la rutina de entrenamientos y se aplica una mayor intensidad en los ejercicios.

Tabla 4. Escala de la percepción subjetiva del dolor muscular.

Puntuación	Sensación
1	Sin dolor
2	Dolor mínimo sin interferencia en un entrenamiento inmediato
3	Dolor medio con interferencia leve en un entrenamiento inmediato
4	Dolor agudo con interferencia negativa en un entrenamiento inmediato
5	Dolor máximo con incapacidad física en un entrenamiento inmediato

3.6. ANÁLISIS BIOQUÍMICO

Se realizó una extracción de 11 mL de sangre (3 tubos: 2 vacutest tapón rojo con gel separador y 1 tubo de fluoruro sódico de 4 mL) fue retirada de la vena antecubital utilizando una técnica estéril para analizar las variables hematológicas. La extracción se realizó con el sujeto en sedestación.

Una vez realizadas las extracciones, éstas se mantuvieron en frío (2 °C) y se trasladaron al Hospital Virgen de la Caridad para su análisis. Tras la coagulación completa de la sangre (aproximadamente en 30 min), se centrifugan los tubos 10 min a 5000 g para separar los elementos formes (células) y el coagulo de fibrina dejando un sobrenadante de suero limpio. Se hacen alícuotas con el suero para determinar los marcadores de daño muscular y parámetros bioquímicos (las enzimas hepáticas (GOT y GPT), creatinfosfoquinasa, lactato deshidrogenasa, mioglobina, ferritina, glucosa, creatinina, arginina, lactato, ácido úrico, urea, colesterol y proteína C-reactiva ultrasensible) en el equipo correspondiente de acuerdo a los procedimientos sanitarios.

3.6.1. Arginina

Se siguió el protocolo de [Collins et al. \(2007\)](#). Se tomaron 40 µL de plasma y se mezclaron con 40 µL de HClO₄ 1,5 M, esto ayudó a precipitar las proteínas. A esta solución, se le añadió 900 µL de agua de grado HPLC y 20 µL de K₂CO₃, 2 M. La mezcla se centrifugó a 10,000 g durante 1 minuto. Se tomó 0,1 mL del fluido sobrenadante, inyectándose en un cromatógrafo de líquidos (HPLC, Waters, Milford, MA, EE.UU). Se utilizó como estándar un

patrón de arginina (Sigma Chemicals, Madrid, Misuri, EE.UU). Mediante HPLC con detector de fluorescencia (AGILE serie 1200).

3.6.2. Enzimas relacionadas con el daño muscular

- *Aminotransferasas: Aspartato-aminotransferasa (AST) y Alanina-aminotransferasa (ALT)*. Estas enzimas se determinaron por fotometría cinética UV NADH (Met. IFCC) (SPINREACT SPIN 640).
- *Lactato deshidrogenasa (LDH)*, mediante fotometría: cinética UV Piruvato (Met. D6KC) (SPINREACT SPIN 640).
- *Creatinquinasa (CK o CPK)*, mediante fotometría: cinética UV NAC (SPINREACT SPIN 640).

3.6.3. Otros marcadores bioquímicos relacionados con el daño muscular

- Lactato, mediante espectrometría de absorción molecular.
- Proteína C reactiva ultrasensible, mediante inmunoturbodimetría (SIEMENS Mod. Advia 1800).
- Mioglobina y ferritina, mediante fotometría: turbidimetría aglutación látex (SPINREACT SPIN 640).
- Creatinina, mediante fotometría a punto final por el método jaffe sin desproteinización (ácido pícrico).
- Urea, mediante fotometría a tiempo fijo empleando el método enzimático con ureasa en UV.
- Ácido úrico, mediante fotometría a punto final empleando el método enzimático colorimétrico con uricasa (POD).
- Colesterol, mediante fotometría punto final empleando el método enzimático colorimétrico (CHOD-POD).
- Glucosa, mediante fotometría a punto final empleando glucosa oxidasa (GOD).

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo con el paquete informático SPSS 22.0 (SPSS Inc. Chicago, IL) en el entorno de Windows. En primer lugar, se realizó un análisis descriptivo con el fin de detallar y analizar las características de las variables de estudio. La normalidad de la distribución de las variables se evaluó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. En los datos con distribución normal se aplicó el test ANOVA de medidas repetidas con la corrección de Bonferroni. Por otro lado, en aquellas variables que no siguieron una distribución normal, se realizó el test de Wilcoxon para muestras relacionadas con la corrección de Bonferroni. En todas las pruebas se estableció un nivel mínimo de significación de $p \leq 0.05$.

4. RESULTADOS

4. INFLUENCIA DEL ZUMO DE SANDÍA FASHION ENRIQUECIDO EN L-CITRULINA EN EL RENDIMIENTO DURANTE EL EJERCICIO DE CARRERA DE MEDIA MARATÓN Y VALORACIÓN DEL DAÑO MUSCULAR DURANTE LAS 24, 48 y 72 HORAS TRAS LA CARRERA

4.1. EFECTO DEL ZUMO DE SANDÍA ENRIQUECIDO EN L-CITRULINA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL.

El peso de los atletas disminuyó significativamente pos competición cuando eran suplementados con zumo Placebo (-1.91 kg) y cuando fueron suplementados con zumo Fashion+Citrulina (-1.98). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la pérdida de peso post-competición en función del zumo que ingirieron (Figura 2).

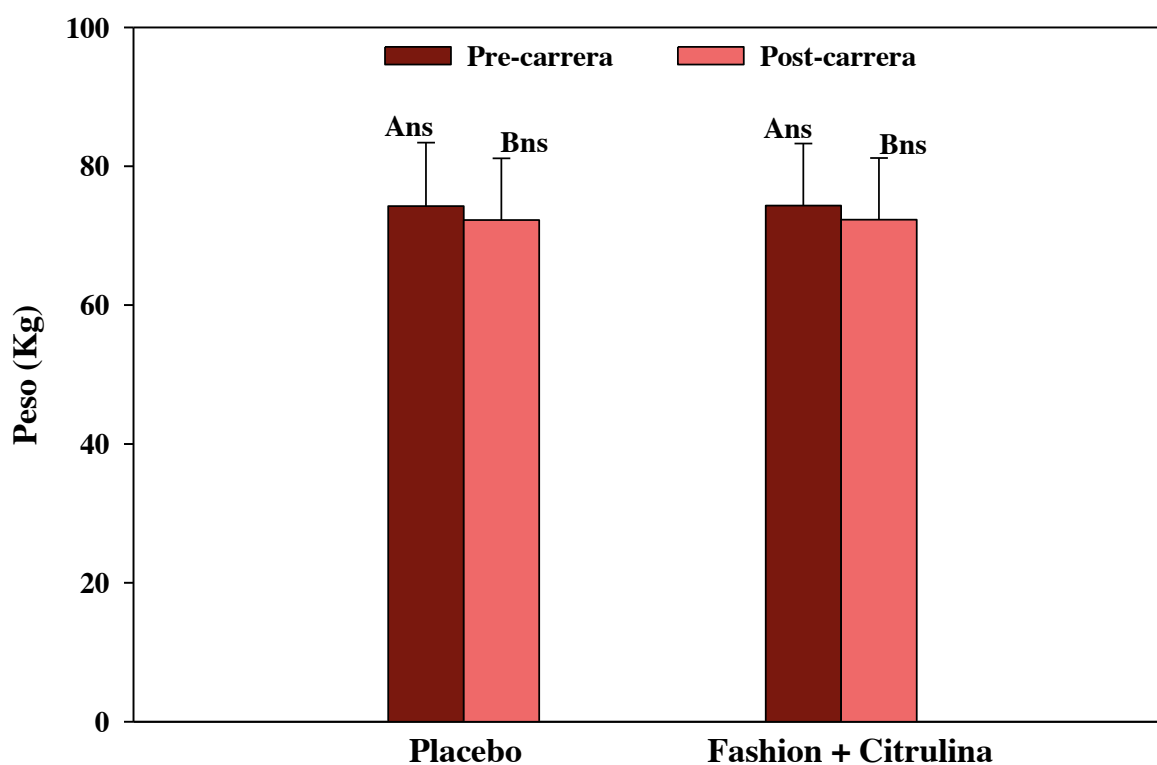


Fig 2. Pérdida de peso tras la carrera al ingerir las diferentes bebidas. Letras mayúsculas comparan una misma bebida en el tiempo y minúsculas las distintas bebidas para un mismo tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS, no significativo.

Algunos estudios determinan que la pérdida de más del 2% del peso durante carreras de larga duración, genera un detrimento del rendimiento (Noakes et al. 2005). Sin embargo, estudios previos encontraron que los atletas más rápidos son aquellos que pierden un mayor peso corporal con temperaturas de la parte central del cuerpo más altas (Pugh, 1967). La

modificación del peso corporal varía entre pérdidas del 8% y la ganancia del 5% del peso corporal (Zouhal et al., 2011), coincidiendo con estudios previos en los que 2135 competidores en los eventos deportivos sufrían pérdidas del 10% del peso y ganancias del 6% (Noakes et al. 2005), obteniendo que los sujetos que sufren una mayor pérdida de peso son los más rápidos (Zouhal et al., 2014). Sin embargo, la ingesta de L-Citrulina no repercutió en las pérdidas de peso tras la carrera respecto al placebo.

4.2. EFECTO DEL ZUMO DE SANDÍA ENRIQUECIDO EN L-CITRULINA EN EL RENDIMIENTO DEPORTIVO

◆ Esfuerzo Percibido justo tras finalizar la prueba

En la Figura 3 se pueden observar los resultados obtenidos en la escala de esfuerzo percibido (RPE) por los participantes en cada una de las pruebas realizadas. No se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre las bebidas ensayadas en el RPE de los participantes al terminar la prueba de media maratón. Los valores son de $15,29 \pm 1,9$ al terminar la media maratón con placebo y $15,41 \pm 1,8$ al terminar prueba en zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina, mostrando con estos valores que la prueba que se diseñó en este experimento era de esfuerzo máximo.

El mantenimiento del rendimiento con la suplementación con una dosis de zumo de sandía Fashion enriquecido con L-citrulina es consistente con los resultados obtenidos en la percepción de esfuerzo (RPE), observando que los valores de RPE son similares en ambos ensayos. Estos valores de RPE muestran una intensidad del ejercicio próxima al umbral anaeróbico individual del deportista (Hill et al., 1987; Steed et al., 1994) que es un factor limitante del rendimiento en pruebas de resistencia larga duración II como la que es objeto de estudio.

Este mantenimiento en los valores de RPE al finalizar la prueba, concuerda con los resultados obtenidos por Tarazona et al. (2013) durante la realización de una prueba interválica de doce minutos de duración en deportistas entrenados. Por otro lado, Hickner et al. (2006) muestra un descenso en los valores de RPE después de una dosis de 3 o 9 g de L-Citrulina en sujetos activos. Sin embargo, los sujetos con más experiencia en el entrenamiento muestran una tendencia a reducir la percepción de esfuerzo que los sujetos activos, que sobreestiman estos valores y sus resultados son menos válidos y reproducibles (Carton y Rhodes, 1985). En

consecuencia, la percepción subjetiva del esfuerzo tras realizar una media maratón en los participantes es similar en ambas condiciones de estudio.

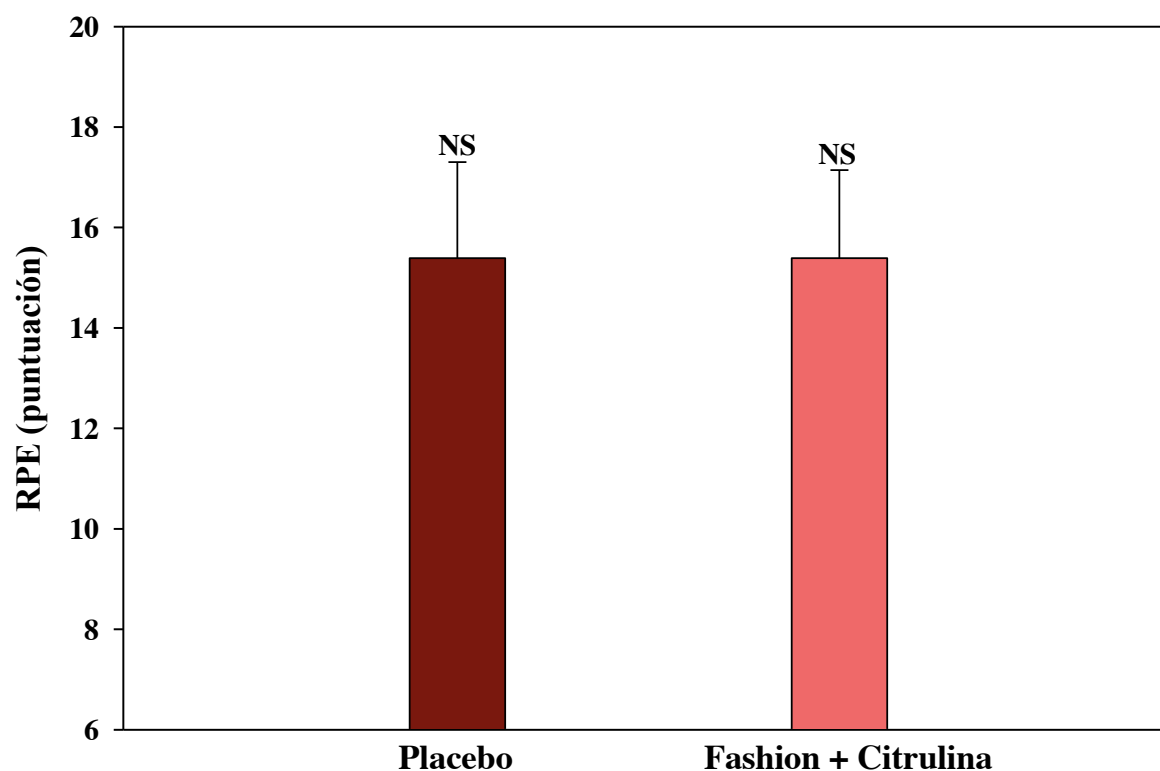


Fig 3. Percepción subjetiva del esfuerzo (RPE) al terminar la media maratón. NS, no significativo.

◆ Altura de Salto

En los voluntarios que habían ingerido el placebo se observó un descenso significativo de la altura del salto en el SJ (pre-carrera; $23,5 \pm 7,0$ vs. post-carrera; $21,2 \pm 6,2$; $\Delta 2,33 \pm 3,6$ cm) y en el CMJ (pre-carrera; $25,3 \pm 7,7$ vs. post-carrera; $22,9 \pm 7,9$, $\Delta h_{CMJ} 3,8 \pm 4,3$ cm) pos carrera, sin embargo las alturas de salto en los voluntarios que habían ingerido zumo de sandía Fashion enriquecido se mantuvieron tras la competición (Δh_{CMJ} ; $1,68 \pm 3,6$ cm, Δh_{SJ} ; $3,85 \pm 4,49$ cm) (Figura 4).

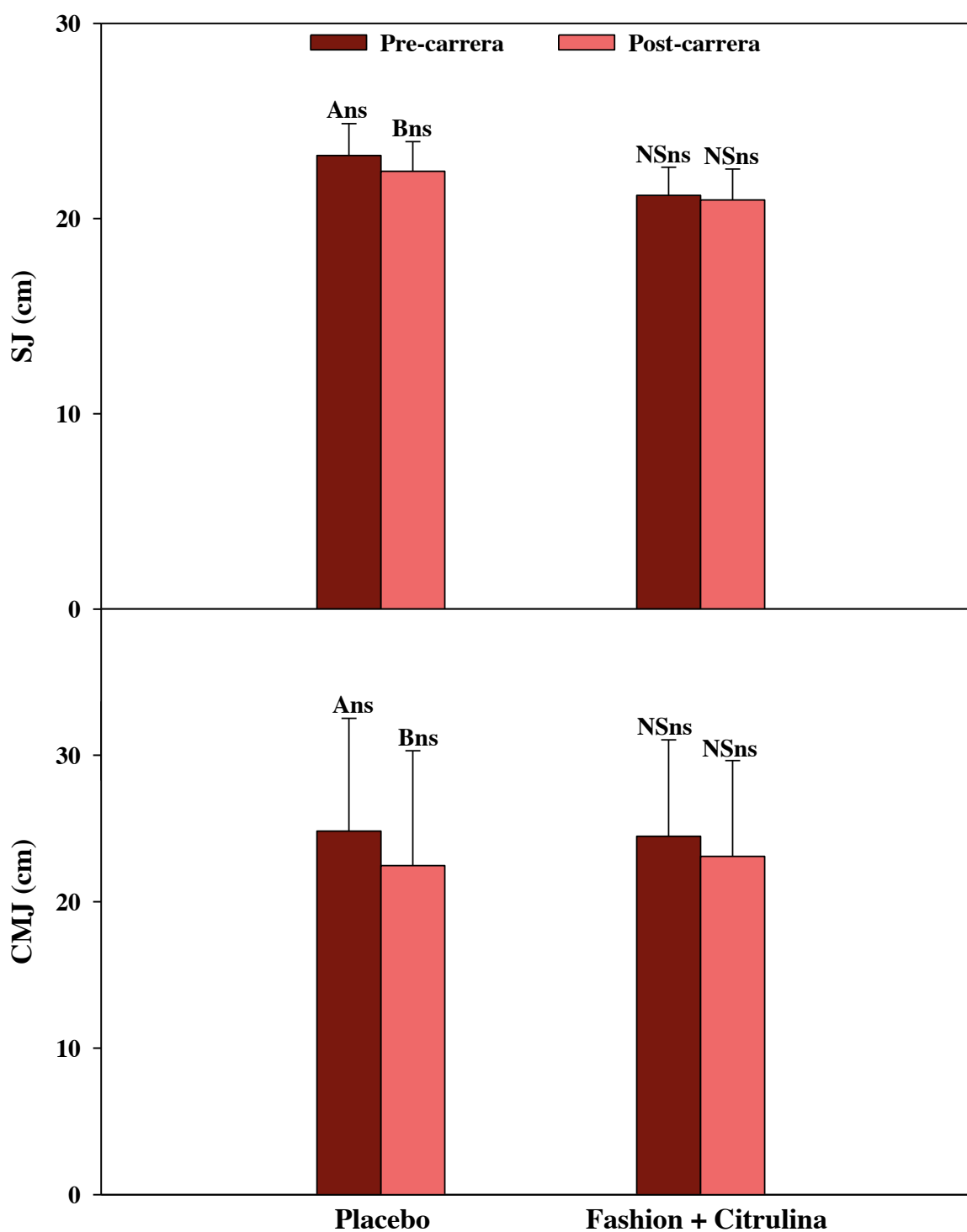


Fig 4. Efecto de la bebida en los saltos verticales: squat jump (SJ) y countermovement jump (CMJ) antes y después de la media maratón. Letras mayúsculas compara una misma bebida en el tiempo y minúsculas las distintas bebidas para un mismo tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS, no significativo.

◆ Percepción subjetiva del dolor muscular

Con respecto al dolor percibido, se observó una disminución significativa después de la carrera entre todos los momentos en los participantes independientemente del zumo con el que eran suplementados. Por otro lado, también se observaron diferencias significativas entre los grupos a las 24 h, 48 y 72 h con una diferencia en las medias de 0.29, 0.24 y 0.23 puntos respectivamente (Figura 5).

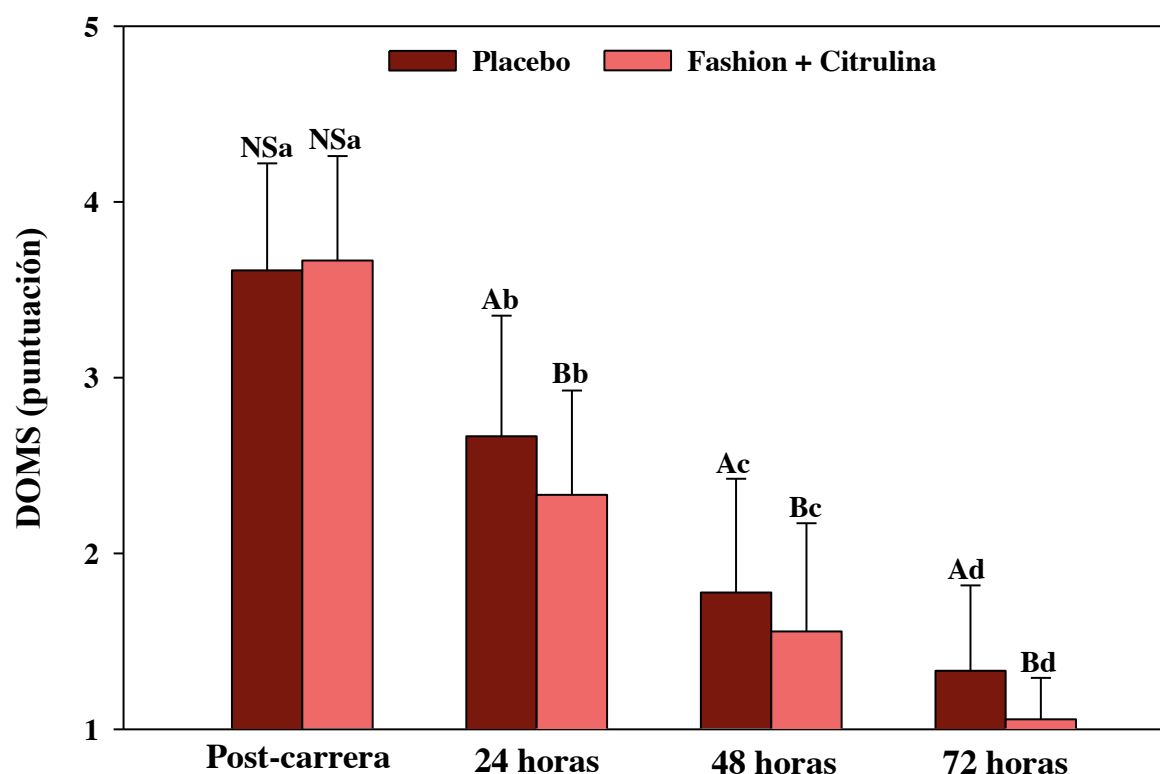


Fig 5. Percepción subjetiva del dolor muscular de inicio tardío (DOMS) al terminar la media maratón y su evolución en los tres días posteriores a la carrera. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

Armstrong (1986) asoció el daño muscular en las pruebas de resistencia a la "sobrecarga metabólica" y a las altas "tensiones mecánicas", el daño muscular genera una disminución en la capacidad contráctil del músculo. Las acciones musculares explosivas, como las que son utilizadas en el salto, también puede verse disminuidas por el daño muscular (Kirby et al., 2012). Por lo tanto, las carreras de resistencia podría disminuir el rendimiento del salto vertical, generando una disminución de la altura del salto (Del Coso et al. 2012). Sin embargo, los sujetos cuando eran suplementados con citrulina después de la carrera sufrieron un descenso no significativo en el rendimiento del salto, que si se producía cuando eran suplementados con

placebo. No se han encontrado estudios previos en los que se observen resultados similares a los que se obtienen en nuestro estudio. En este sentido, los sujetos que ingerían el zumo enriquecido, sentían un menor grado de dolor que cuando ingerían el placebo, a las 24h 48h y 72h pos competición, estos resultados coinciden, utilizando también en bebidas suplementadas en citrulina, con los encontrados por Tarazona-Díaz et al. (2013b) y los encontrados por Perez-Guisado y Jakeman (2010) en tareas anaeróbicas.

Barton et al. (2005) observaron que altas dosis de L-arginina en animales generaban una reducción en el daño muscular y en la capacidad de contracción. Además, la L-citrulina es un potente precursor de la de la L-arginina y por lo tanto la ingesta de L-citrulina podría disminuir el daño muscular y mantener la capacidad contráctil del músculo durante un mayor periodo de tiempo. Por otro lado, una de las principales causas por las que puede mejorar/mantener el rendimiento la suplementación de citrulina es por su respuesta vasodilatadora y el aumento del flujo sanguíneo generando un mejor rendimiento en la fuerza y en la resistencia (Schwedhelm et al 2008, Sureda et al., 2009 and 2010).

Esta reducción en el dolor muscular y en la fatiga post-competición puede ser debido al efecto de la suplementación, favoreciendo la ureogénesis hepática y la reabsorción renal de bicarbonatos (Callis et al., 1991) generando un efecto protector contra la acidosis y la intoxicación de amoníaco. Igualmente, se ha comprobado que la suplementación de L-Citrulina puede promover la producción energética aeróbica (Bendahan et al., 2002). Bendahan et al. (2002) demostraron que la suplementación de L-Citrulina, reduce la sensación de fatiga y aumenta la tasa de recuperación.

◆ Frecuencia cardíaca media

En la figura 6 se pueden observar los valores de la frecuencia cardíaca media de los participantes en cada una de las medias maratones realizadas. No se aprecian diferencias estadísticamente significativas entre cada una de las bebidas ensayadas. Los valores son de $162,83 \pm 9,7$ pulsaciones min^{-1} durante la media maratón con placebo y $165,71 \pm 7,5$ pulsaciones min^{-1} durante la prueba con el zumo de sandía Fashion enriquecido. Estudios previos tampoco han encontrado diferencias en la frecuencia cardíaca tras una ingesta enriquecida con L-citrulina (1.17 a 6 g en dosis única) o citrulina malato (8 g en dosis única) respecto a un placebo (Tarazona-Díaz et al., 2013b, Glenn et al., 2015).- Resultados similares se observan al evaluar la frecuencia cardíaca máxima (placebo: 179.18 ± 10.6 pulsaciones min^{-1} ; el zumo de sandía Fashion enriquecido: 182.41 ± 13.1 pulsaciones min^{-1}). Estos valores muestran una ligera

tendencia al aumento y son similares a los que obtienen Hickner et al. (2006). Además, esta tendencia al incremento también sugieren un aumento del transporte de oxígeno a los tejidos que podría estar relacionado con una reducción de la concentración de lactato y otros marcadores metabólicos (Spina, 1999). Del mismo modo, el incremento de la frecuencia cardíaca máxima se debe a la mejora de la efectividad del sistema cardiovascular, que permite incrementar el gasto cardíaco mediante la relación entre la frecuencia cardíaca, la contractibilidad del miocardio y el volumen del ventrículo izquierdo y su expresión como volumen sistólico (Spina, 1999). Por lo tanto, al no existir diferencias significativas el estrés al que se ve sometido el sistema cardiovascular de los participantes es similar bajo la ingesta de ambas bebidas.

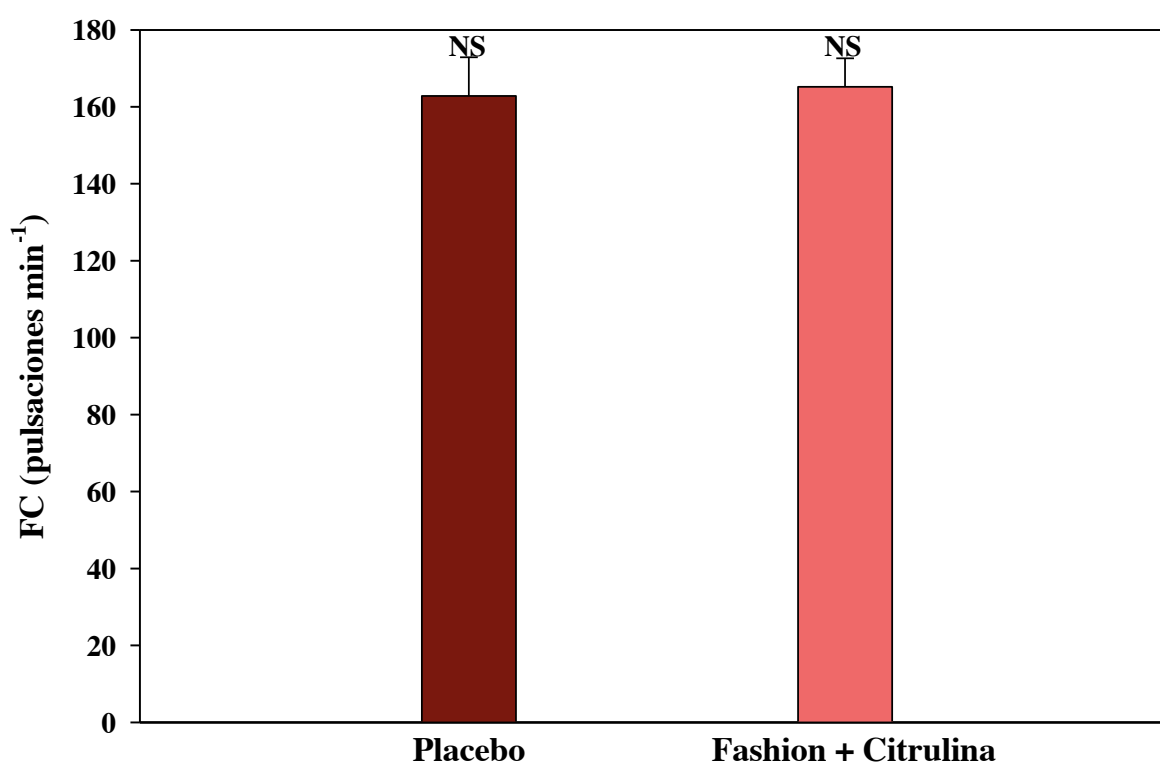


Fig 6. Frecuencia cardíaca media (FC) durante la media maratón. NS, no significativo.

◆ Tiempo de prueba realizado por los atletas

En la figura 7 se muestra el tiempo de prueba en cada una de las medias maratones realizadas sin mostrar diferencias significativas entre cada una de las bebidas ensayadas. El tiempo de prueba fue de $99,91 \pm 13,5$ min en la media maratón con placebo y $99,86 \pm 11,9$ min en la prueba con el zumo de sandía.

Estos hallazgos concuerdan con el estudio de Cutrufello et al. (2014) que utilizan la suplementación con L-citrulina en un test incremental aeróbico hasta la extenuación. Sin embargo, Hickner et al. (2006) muestra una mejora en el tiempo hasta la extenuación después de una dosis de 3 o 9 g de L-Citrulina en sujetos activos. Posiblemente, estas diferencias en los resultados se deban a la muestra utilizada, observando que el estudio de Cutrufello et al. (2014) con sujetos entrenados no se consigue ese efecto ergogénico que si se observa en sujetos con menor desarrollo de sus capacidades físicas (Hickner et al., 2006).

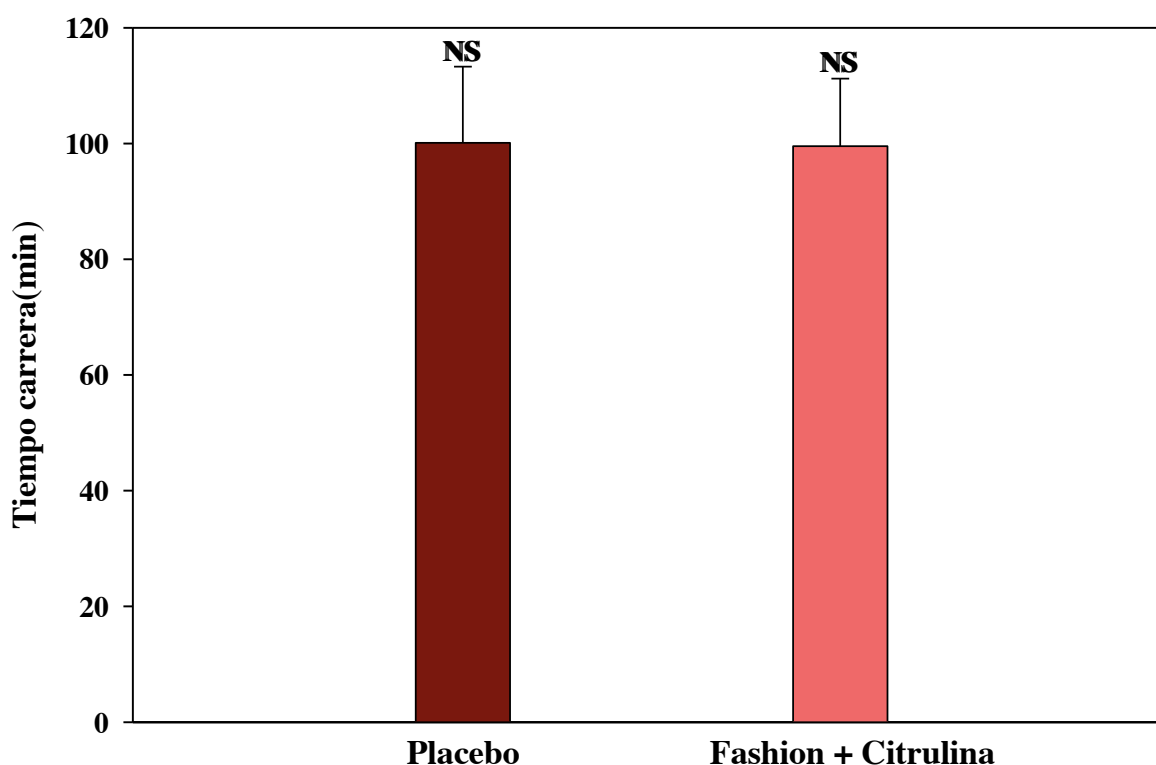


Fig 7. Tiempo empleado para realizar la media maratón. NS, no significativo.

4.3. EFECTO DEL ZUMO DE SANDÍA ENRIQUECIDO EN L-CITRULINA EN LA BIOQUÍMICA

Los parámetros bioquímicos pueden aportar información de gran utilidad, para el control de los entrenamientos y periodos de recuperación.

En nuestro estudio, no se observó ningún efecto colateral en ningún voluntario con la dosis única de 500 mL de zumo de sandía conteniendo 3.45 g de L-citrulina, siendo ésta bien metabolizada por el organismo.

◆ Arginina sérica

Los voluntarios que tomaron el zumo de sandía incrementaron las concentraciones plasmáticas de arginina, al terminar la carrera, un 32% respecto al placebo (**Fig. 8**). Se observó una tendencia a disminuir la concentración sérica de arginina tras la carrera de media maratón en los voluntarios que habían ingerido el placebo, aunque sin diferencias significativas respecto a los niveles basales.

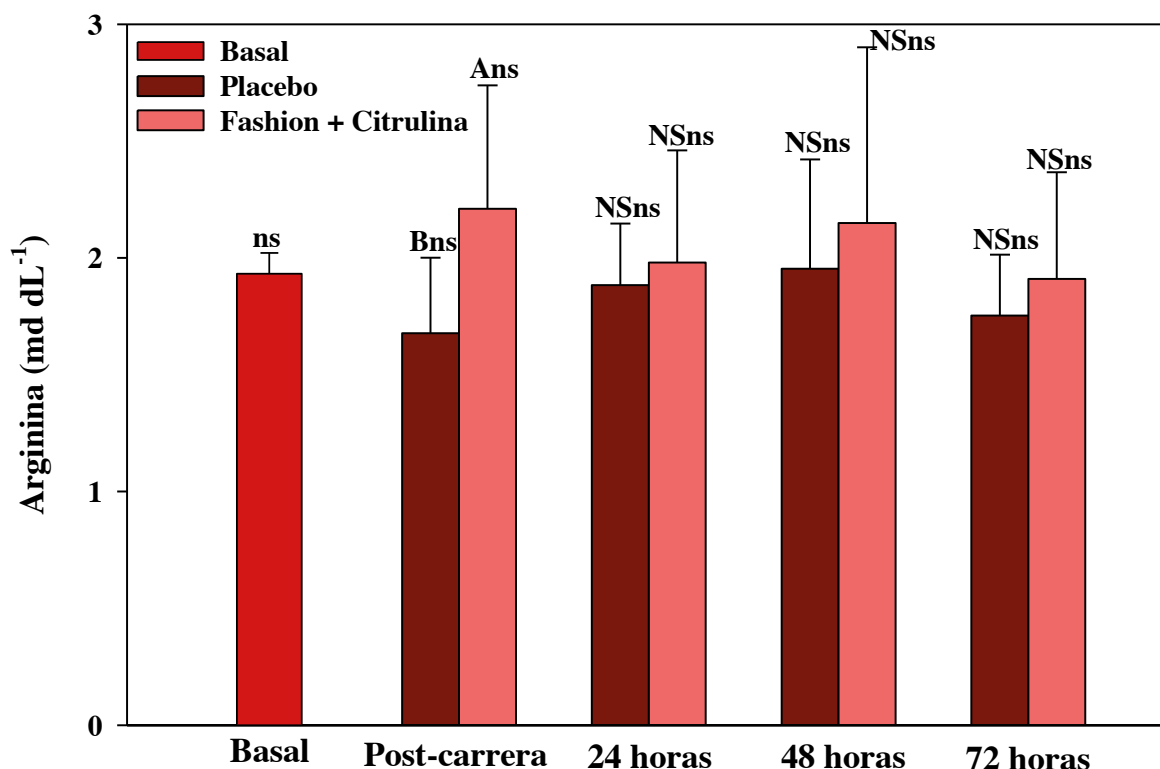


Fig 8. Evolución de la concentración de arginina plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

Como se ha puesto de manifiesto anteriormente, tras la ingesta de L-citrulina, hubo un aumento en la concentración sérica de L-arginina, debido a la conversión de L-citrulina a L-arginina, como ha sido descrito en estudios previos. Mandel et al. (2005) en un estudio in vivo con 6 sujetos demostró que una dosis única de 3,3 kg de sandía aumentaba las concentraciones plasmáticas de citrulina y arginina alcanzando la máxima concentración a la hora y dos horas de la ingesta, respectivamente. Dos años más tarde, Collins et al. (2007) realizaron un estudio in vivo con 23 sujetos, a los que se les suministró tres tipos de tratamientos: dieta control, dieta

suplementada con bajas dosis de citrulina (0,26 kg de zumo de sandía diario, equivalente a 1 g de citrulina al día) y dieta suplementada con altas dosis de citrulina (0,52 kg de zumo de sandía diario, equivalente a 2 g de citrulina al día). Cada tratamiento se suministró durante tres semanas y fue precedido de un periodo de lavado de 2 a 4 semanas. Tras tres semanas de suplementación, los resultados mostraron un incremento en las concentraciones plasmáticas de arginina de un 11 y 22% según la baja o alta ingesta de zumo de sandía, respectivamente, sin observarse efectos secundarios. Además, se ha demostrado que la L-citrulina procedente de fuentes naturales, como el zumo de sandía, aumenta la biodisponibilidad de este aminoácido (Tarazona-Diaz, et al., 2013). En estudios de suplementación con citrulina malato, Sureda et al. (2010) describieron la influencia de la administración aguda de citrulina malato (6 g) en 17 ciclistas durante el ejercicio físico determinando un aumento en la concentración plasmática de arginina. Sin embargo, la dosis máxima de ingesta de citrulina sin que aparezcan efectos colaterales no está clara. En algunos estudios, altas dosis de citrulina han ocasionado algún problema digestivo, como en el caso de la ingesta de una única dosis de 8 g de citrulina malato ocasionando molestias estomacales al 15 % de los voluntarios (Pérez-Guisado y Jakeman, 2010). Por otro lado, tras un tratamiento prolongado de 3 g de L-arginina tres veces al día durante 6 meses Schulman et al. (2006) observaron un aumento en los problemas cardiovasculares en voluntarios mayores de 60 años que habían sufrido un infarto de miocardio, pudiendo tener una relación con una mayor tasa de mortalidad en la etapa postinfarto.

La realización de un ejercicio intenso durante un tiempo prolongado conlleva a un aumento del catabolismo protéico con los consiguientes cambios en las concentraciones de aminoácidos en el torrente sanguíneo. Como en nuestro experimento, Sureda et al. (2010) observaron una disminución en la concentración de arginina sanguínea tras el ejercicio físico en los voluntarios que habían ingerido el placebo respecto de los que habían ingerido 6 g de citrulina malato.

L-citrulina aportada de forma exógena es más eficiente que L-arginina aumentando los niveles de L-arginina en el organismo (Kaore et al., 2013). Diferentes efectos beneficiosos han sido descritos sobre el aumento de la concentración de arginina en el organismo. Por un lado, el aumento en la disponibilidad de L-arginina por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) (Mori, 2007) está asociado con un aumento en la producción de óxido nítrico, el cual desempeña importantes funciones en el organismo como por ejemplo regular la oxidación de los ácidos grasos y glucosa (Jobgen et al., 2006), además de sus efectos vasodilatadores (Hickner et al., 1997). Por otro lado, también se ha visto un beneficio en la suplementación con L-citrulina al

aumentar la disponibilidad de L-arginina ya que atenúa las posibles lesiones intestinales durante el ejercicio y mejora la perfusión esplácnica (Wijck et al., 2014).

◆ Creatinina

El amino ácido creatina es sintetizado a partir de arginina y glicina, pudiendo incrementar la cantidad de creatina aportada al músculo esquelético debido al aumento del flujo sanguíneo en el músculo (Little et al., 2008). Este aminoácido es una fuente de energía en músculo esquelético, siendo el producto de su degradación la creatinina. Como era de esperar, los niveles séricos de creatinina fueron mayores al finalizar la carrera. En nuestro estudio no se observaron diferencias significativas entre las bebidas ensayadas (placebo y zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina), restableciéndose los niveles basales de creatinina a las 24 de la media maratón (Fig. 9).

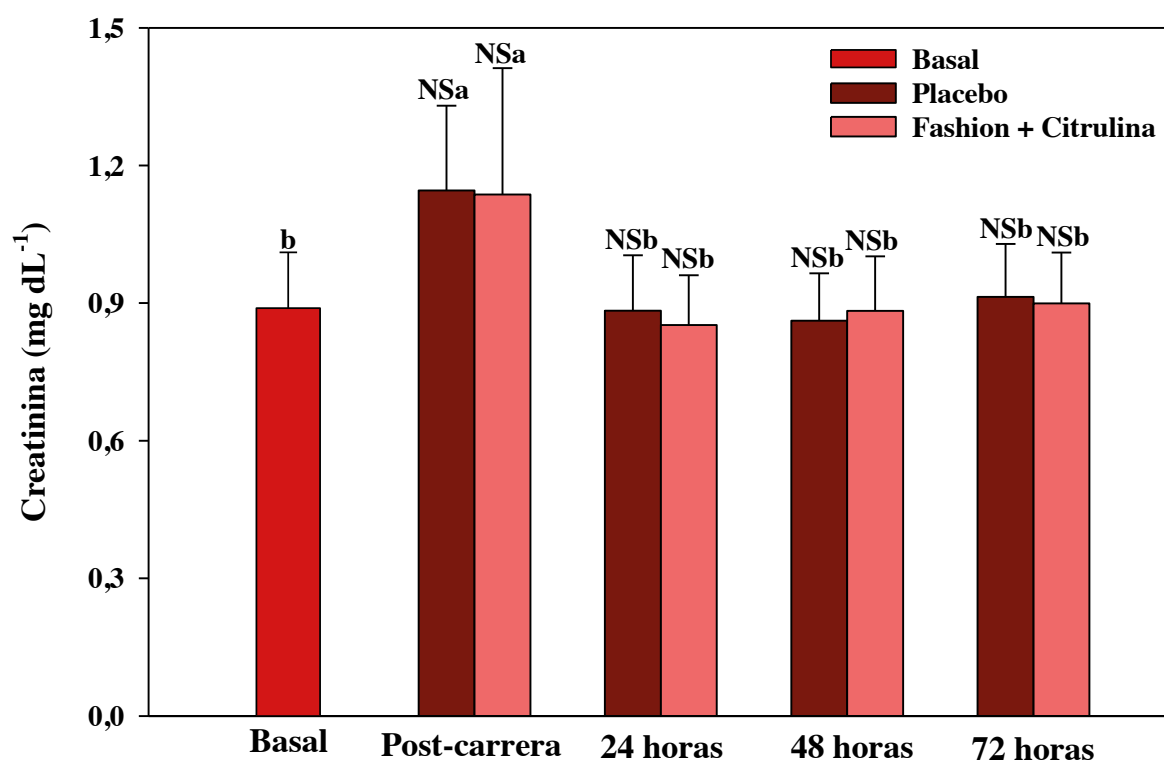


Fig 9. Evolución de la concentración de creatinina plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Glucosa y colesterol sérico

Tras la carrera se detectó una mayor concentración de glucosa sérica en los voluntarios que habían ingerido el placebo respecto al zumo de sandía Fashion enriquecido con L-citrulina (Fig. 10), pero sin diferencias significativas respecto a los niveles basales.

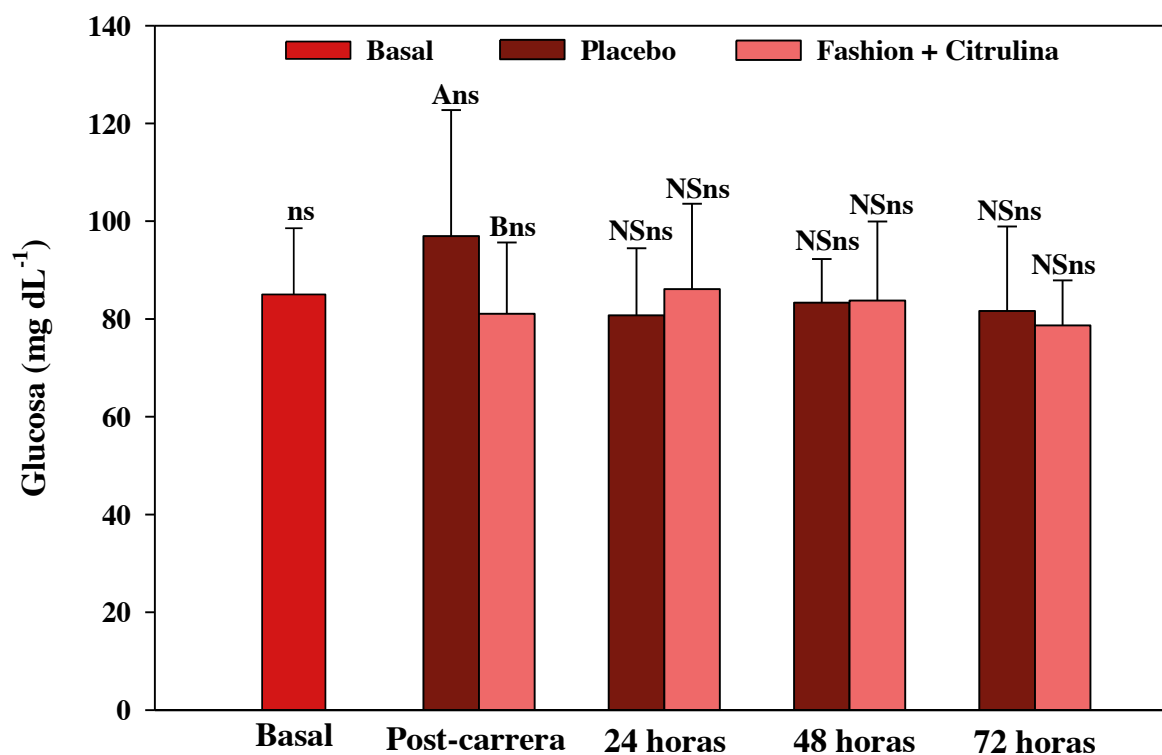


Fig 10. Evolución de la concentración de glucosa plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

Por otro lado, los niveles de colesterol sérico aumentaron al finalizar la carrera en los voluntarios que habían ingerido el placebo respecto a los niveles basales. Sin embargo, no se observaron diferencias respecto a los voluntarios que habían ingerido el zumo enriquecido (**Fig. 11**). Las diferencias entre las bebidas se observaron a las 24 horas de la carrera, donde los niveles de colesterol sérico fueron menores en los voluntarios que habían corrido bajo los efectos del zumo enriquecido.

L-citrulina ha sido relacionada con mejorar el control glucémico así como reducir la acumulación de grasa en el organismo. Wu et al. (2007) observaron que las ratas con el síndrome metabólico de Zucker que habían ingerido agua al 0.2% de L-arginina o 63% de zumo del hollejo

de sandía (0.2 % L- arginina + 0.2 % L-citrulina) respecto al placebo, durante 4 semanas, mostraron tanto un aumento en la concentración de arginina como una disminución en las concentraciones séricas de glucosa y ácidos grasos. Posteriormente, Joffin et al. (2014) observaron una acción lipolítica y antigliceroneogénica directa de L-citrulina. Todos estos resultados también pueden ser de utilidad para el control de la diabetes y obesidad tan extendidas en la actualidad.

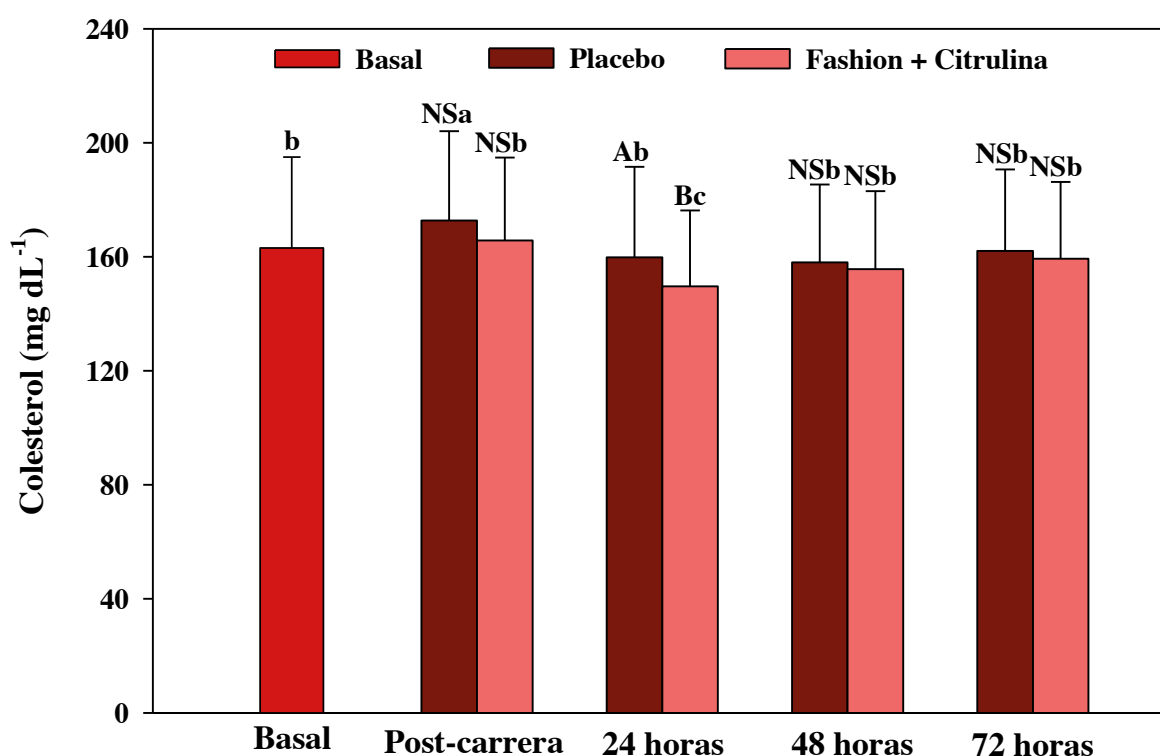


Fig 11. Evolución de la concentración de colesterol plasmático con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Lactato sérico

Ante un ejercicio como el de media maratón, los músculos se encuentran muy activos, obteniendo energía tanto de los ácidos grasos provenientes del tejido adiposo, como de los cuerpos cetónicos provenientes del hígado, como de la glucosa suministrada por el flujo sanguíneo como por el glucógeno almacenado en el músculo. En circunstancias de demanda extra de energía éste glucógeno se degrada a lactato en condiciones anaeróbicas, proporcionando así

un suplemento extra de energía. En nuestro estudio observamos un aumento en la concentración de lactato sérico tras la media maratón, siendo este aumento muy superior en los voluntarios que habían ingerido el placebo en lugar del zumo enriquecido (**Fig. 12**).

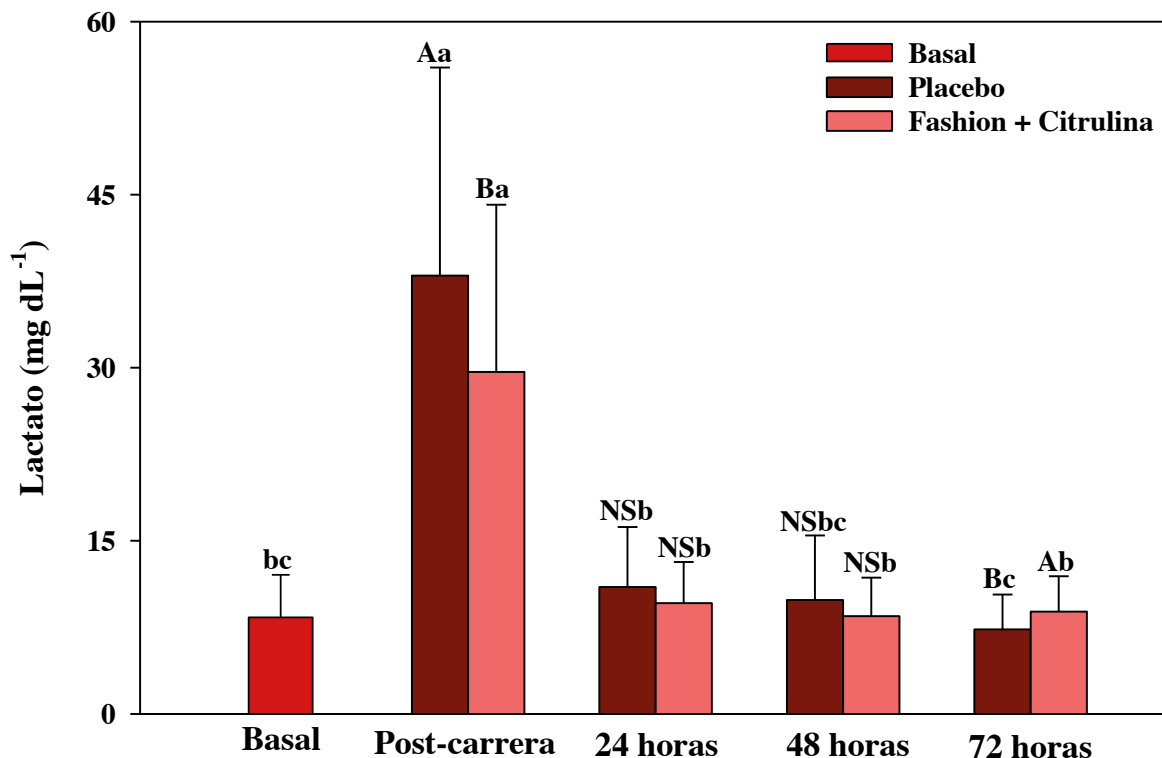


Fig 12. Evolución de la concentración de lactato plasmático con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

La concentración de lactato aumentó tras el ejercicio físico, pero a las 24 horas la concentración de lactato sérico ya había bajado a los niveles basales en los distintos voluntarios. A las 72 horas de la carrera los niveles de lactato sérico fueron superiores en el zumo enriquecido respecto al placebo. Sin embargo y puesto que a las 24 horas de la carrera los niveles de lactato sérico habían recuperado los niveles basales, estas diferencias no son importantes ni relacionadas con el efecto de la bebida en la carrera. Estas diferencias se deben a que los voluntarios que habían corrido bajo el efecto del zumo se habían recuperado antes, tenían un menor dolor muscular y habían retomado su actividad física antes que cuando estos mismos voluntarios habían tomado el placebo. En estudios realizados en ratas, la suplementación en L-arginina reduce el aumento de lactato y amonio como resultado del ejercicio físico intenso

(Meneguello et al., 2003), aumentando así el tiempo de sentir la fatiga muscular (Schaefer et al., 2002).

◆ Ácido úrico y urea

El catabolismo de los nucleótidos purínicos (AMP y GMP) da lugar a la formación de urea y ácido úrico, como formas de excretar el nitrógeno del organismo. Además, se ha reportado que durante un ejercicio intenso, hay una mayor producción de ácido úrico, que conlleva a un estrés oxidativo agudo (Aguiló et al., 2005). Este hecho podría explicar por qué tras la carrera de media maratón, se observó un aumento en las concentración de ácido úrico tras la ingesta del placebo respecto a los niveles basales. En cambio, no se observaron diferencias de ácido úrico entre la basal y post-carrera en los voluntarios que ingirieron el zumo de sandía (Fig. 13).

Tampoco se observaron diferencias significativas en los niveles de ácido úrico entre las bebidas ingeridas. A las 24 horas de la carrera, los niveles de ácido úrico se mantuvieron similares a los basales independientemente de la bebida ingerida previamente a la carrera.

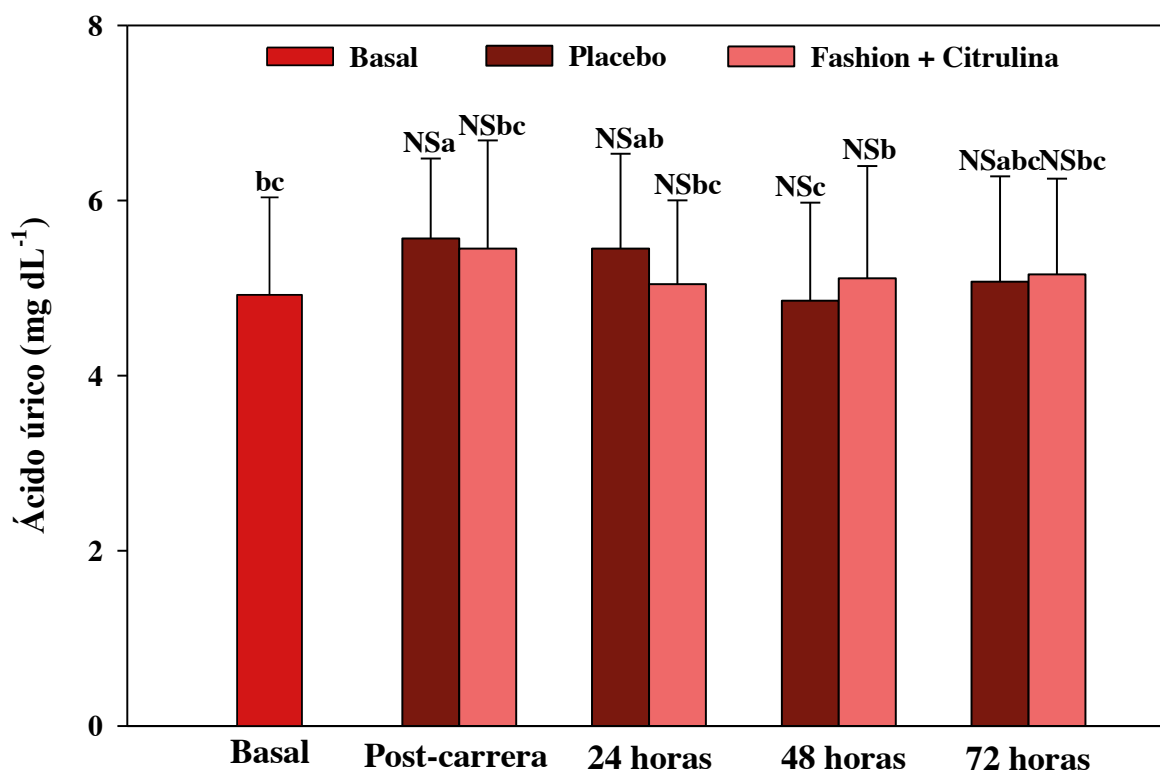


Fig 13. Evolución de la concentración de ácido úrico plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

Los niveles de urea también aumentaron tras la carrera, pero en este caso y contrariamente al ácido úrico, los niveles fueron mayores cuando los voluntarios ingirieron el zumo respecto al placebo (**Fig. 14**). Al igual que en el caso del ácido úrico los niveles se restablecieron a las 24 horas de la carrera independientemente de la bebida ensayada.

El aminoácido L-citrulina, al ser un intermediario del ciclo de la urea, puede ayudar a la eliminación de nitrato producido durante el ejercicio muscular, a través del cual se elimina el ión amonio en forma de urea y promueve la reabsorción de bicarbonatos (Callis et al., 1991). Con la eliminación de los iones amonio, mejora así el consumo aeróbico de piruvato, y por consiguiente disminuyendo la producción de lactato. Todo ello tiene como objetivo reducir la acidosis y el amonio, explicando así las propiedades antifatiga de la citrulina y/o citrulina malato.

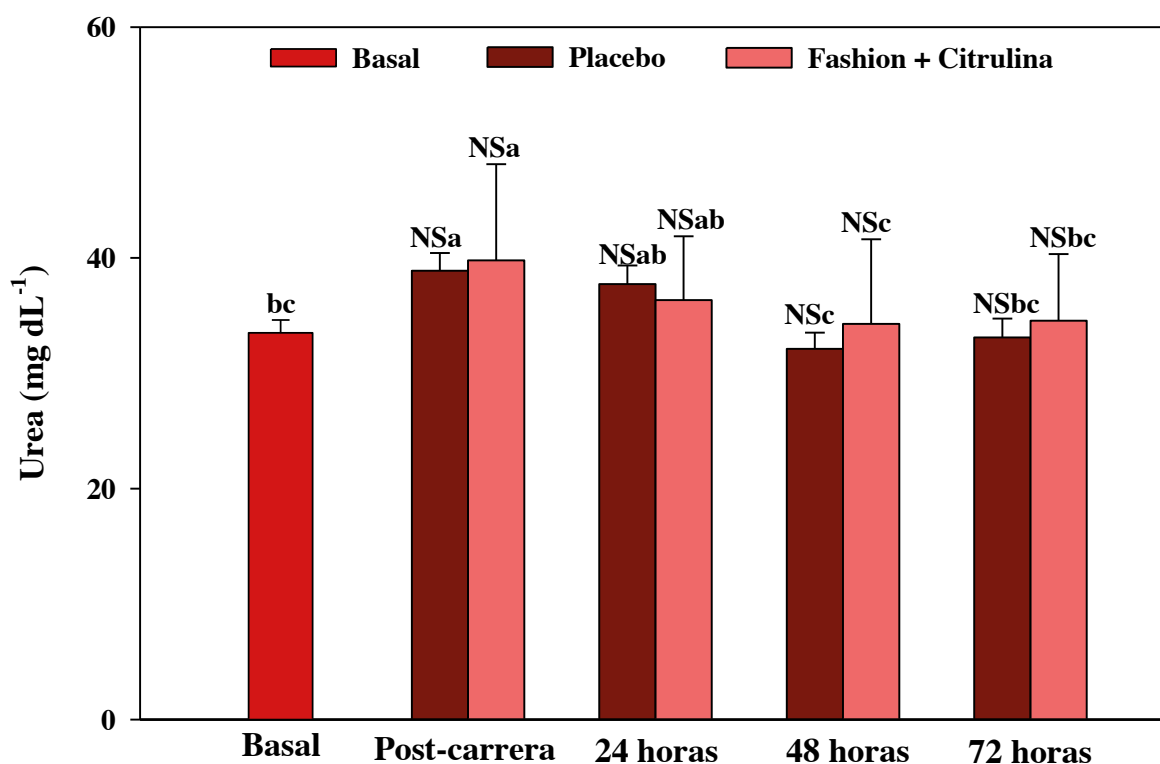


Fig 14. Evolución de la concentración de urea plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Enzima creatinfosfoquinasa sérica (CPK)

Las enzimas creatinfosfoquinasa (CPK) y lactatodeshidrogenasa (LDH) son enzimas relacionadas con la destrucción miofibrilar a nivel musculoesquelético o proteólisis (Urdampilleta et al., 2013). Sus valores séricos son normalmente muy bajos, pero se incrementan posterior al ejercicio intenso y en patologías musculares (Garry et al., 2000). La elevación de la CPK es probablemente proporcional a la duración e intensidad de la contracción, y está relacionada con la severidad de la fatiga muscular (Brancaccio et al., 2006).

La enzima CPK es una enzima que se encarga de proporcionar energía al músculo esquelético. Cuando hay un daño muscular debido a un ejercicio físico intenso, esta enzima se libera al torrente sanguíneo. En nuestro experimento, la concentración sérica de la enzima CPK aumentó tras el ejercicio físico, alcanzando el máximo a las 24 horas de la media maratón y recuperándose los niveles basales de CPK a las 72 horas de la carrera. Contrariamente a lo esperado, los atletas que bebieron el zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina presentaron unos niveles mayores en CPK sérica respecto al placebo, aunque estos cambios no fueron significativos (**Fig. 15**).

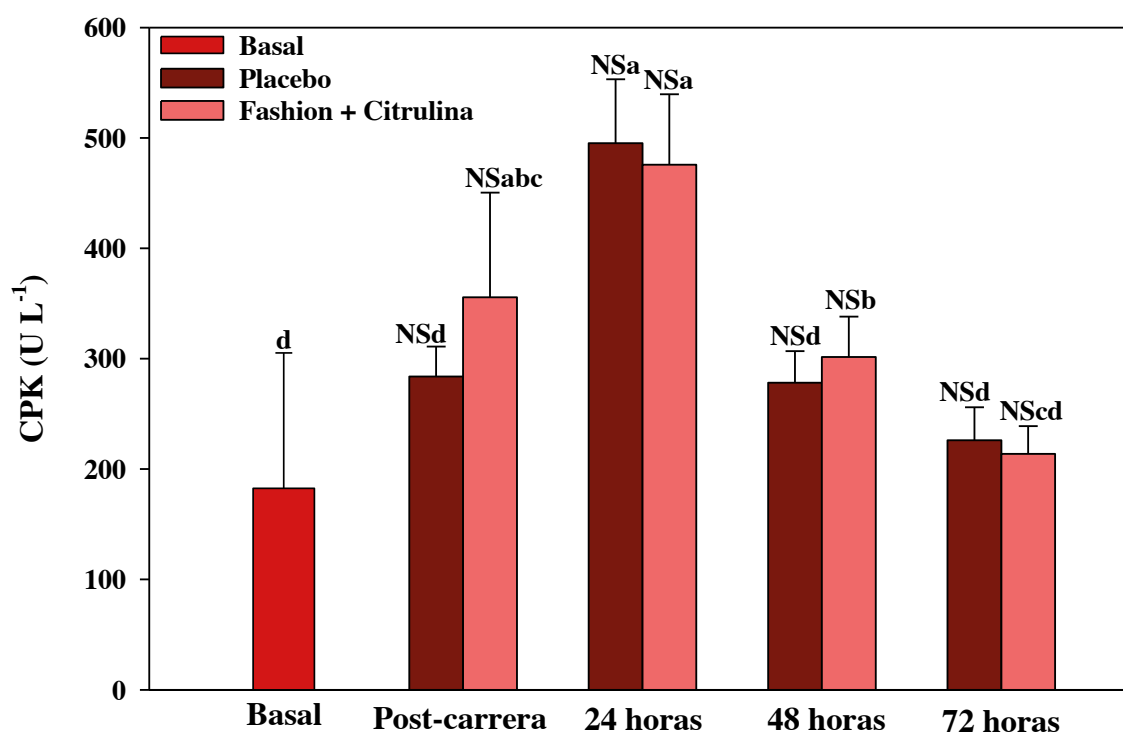
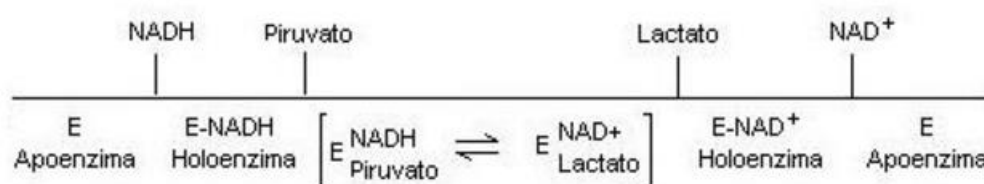


Fig 15. Evolución de enzima plasmática creatinfosfoquinasa (CPK) con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Enzimas lactato deshidrogenasa (LDH)

En cuanto a los resultados de concentraciones plasmáticas de LDH, al igual que con CPK, aumentaron tras la prueba. En relación a las bebidas suministradas se observó una mayor concentración de esta enzima al finalizar la carrera (postcarrera) en aquellos atletas que habían ingerido el zumo enriquecido respecto al placebo (**Fig. 16**).

Esta enzima cataliza una reacción redox, en la que el piruvato es reducido a lactato gracias a la oxidación de NADH a NAD⁺. Participa en el metabolismo energético anaerobio, reduciendo el piruvato (procedente de la glucólisis) para regenerar el NAD⁺, que en presencia de glucosa es el sustrato limitante de la vía glucolítica. En primer lugar entra el NADH seguido por el piruvato y tras el paso catalítico se libera secuencialmente lactato y NAD⁺. En condiciones estándar la reacción está muy desplazada hacia la formación de lactato. Sin embargo, esta reacción puede producirse en dirección contraria en función de la relación de concentraciones de sustratos y productos. Nuestra hipótesis, en este experimento con atletas, reside en que la ingesta del zumo de sandía redujo la concentración de lactato y por ello, la enzima LDH se encuentra en una concentración mayor que en los atletas que tomaron placebo.



Además, a las 72 horas de la carrera los niveles de lactato sérico fueron superiores en el zumo enriquecido respecto al placebo. Esto podría explicarse con lo comentado anteriormente, donde los voluntarios que habían corrido bajo el efecto del zumo se habían recuperado antes del dolor muscular y habían retomado la actividad física antes que cuando estos mismos voluntarios habían tomado el placebo, observando por tanto en estos voluntarios una mayor concentración de lactato y LDH.

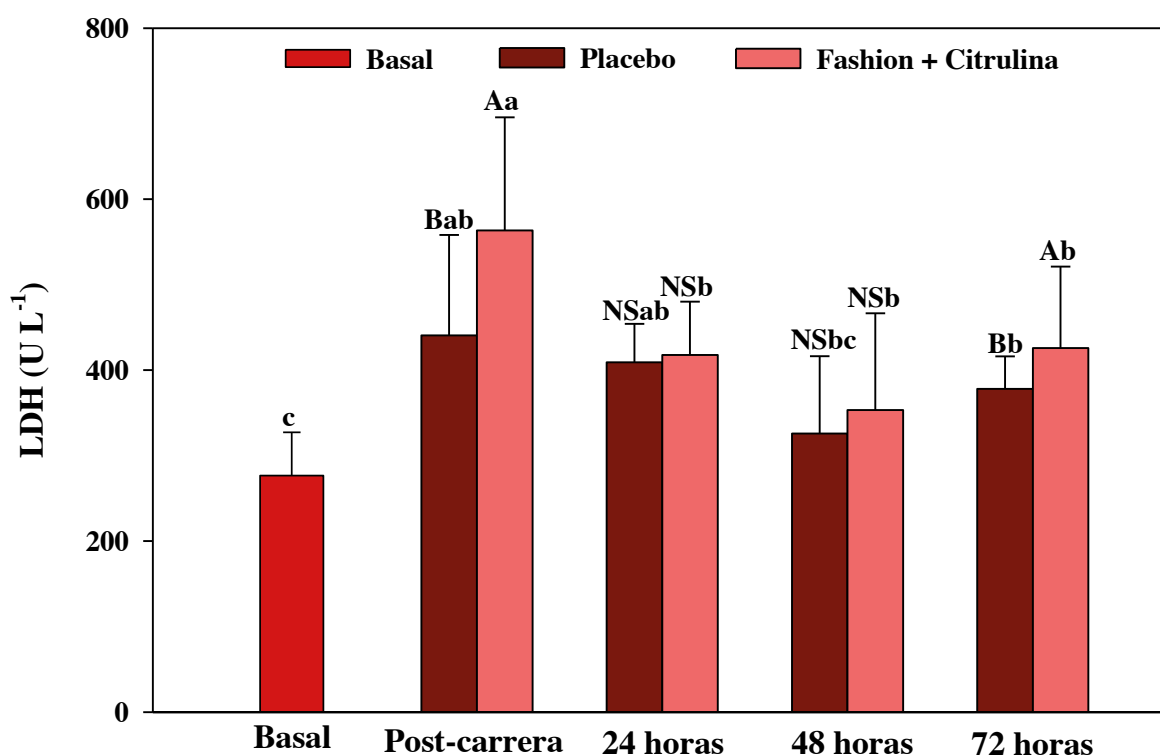


Fig 16. Evolución de la enzima plasmática lactatodeshidrogenasa con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Mioglobina sérica

La mioglobina es una proteína fijadora de oxígeno presente en el músculo estriado que se libera rápidamente tras el daño muscular. La mioglobina facilita la difusión de oxígeno en las fibras musculares estriadas y también sirve como depósito de oxígeno en la propia fibra muscular. La mioglobina sólo se encuentra en músculos estriados (esquelético y cardíaco), donde llega a representar un 5-10% de todas las proteínas citoplasmáticas. Su concentración en sangre aumenta rápidamente tras el daño muscular, normalmente entre 2 y 4 horas, y llega al máximo en 5–10 horas siendo su valoración una ayuda interesante a la hora de conocer el estado y la evolución del músculo. En nuestro estudio se observó un aumento de mioglobina en los niveles séricos tras el ejercicio físico intenso, sin diferencias significativas entre la bebida ingerida. Este aumento en mioglobina se mantuvo a las 24 horas de la media maratón, recuperándose los valores basales a las 48 horas de la carrera, sin diferencias significativas entre las bebidas (**Fig. 17**).

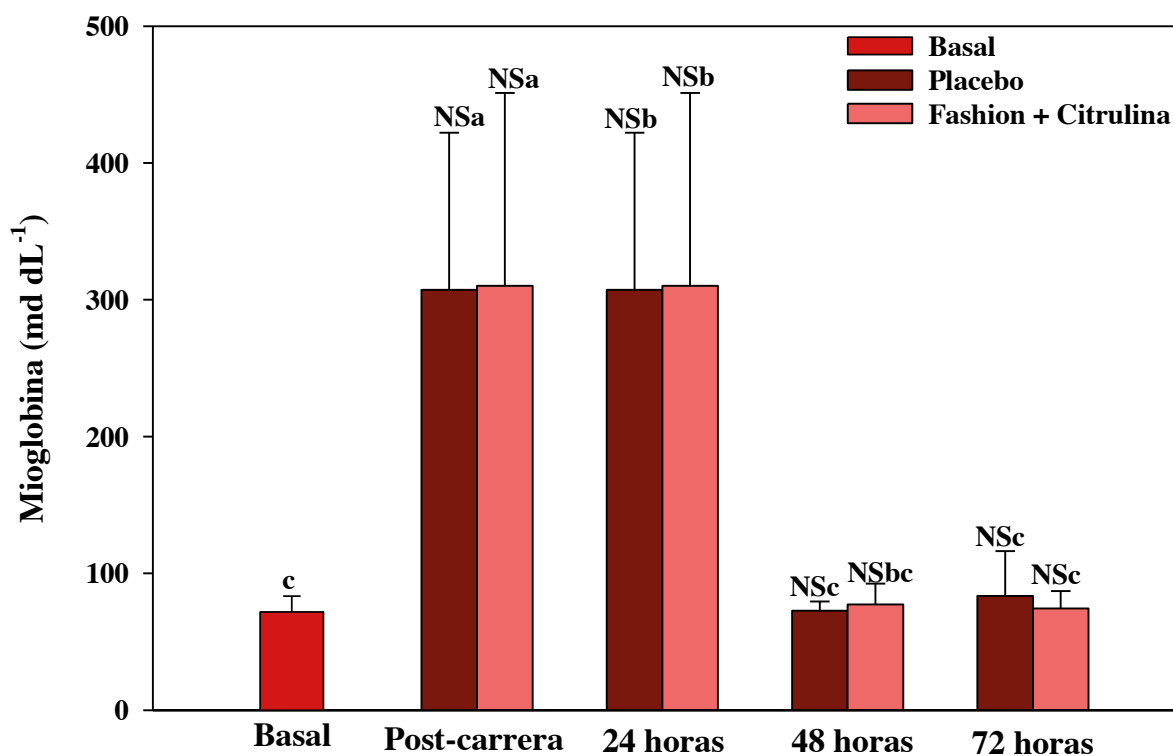


Fig 17. Evolución de la concentración de mioglobina plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Ferritina sérica

La concentración sérica de ferritina aumentó al terminar la carrera, sin diferencias significativas entre las bebidas ensayadas a cada uno de los tiempos evaluados (**Fig. 18**). Taylor et al. (1987) observaron unos valores alterados de ferritina durante varios días tras un esfuerzo de carácter máximo.

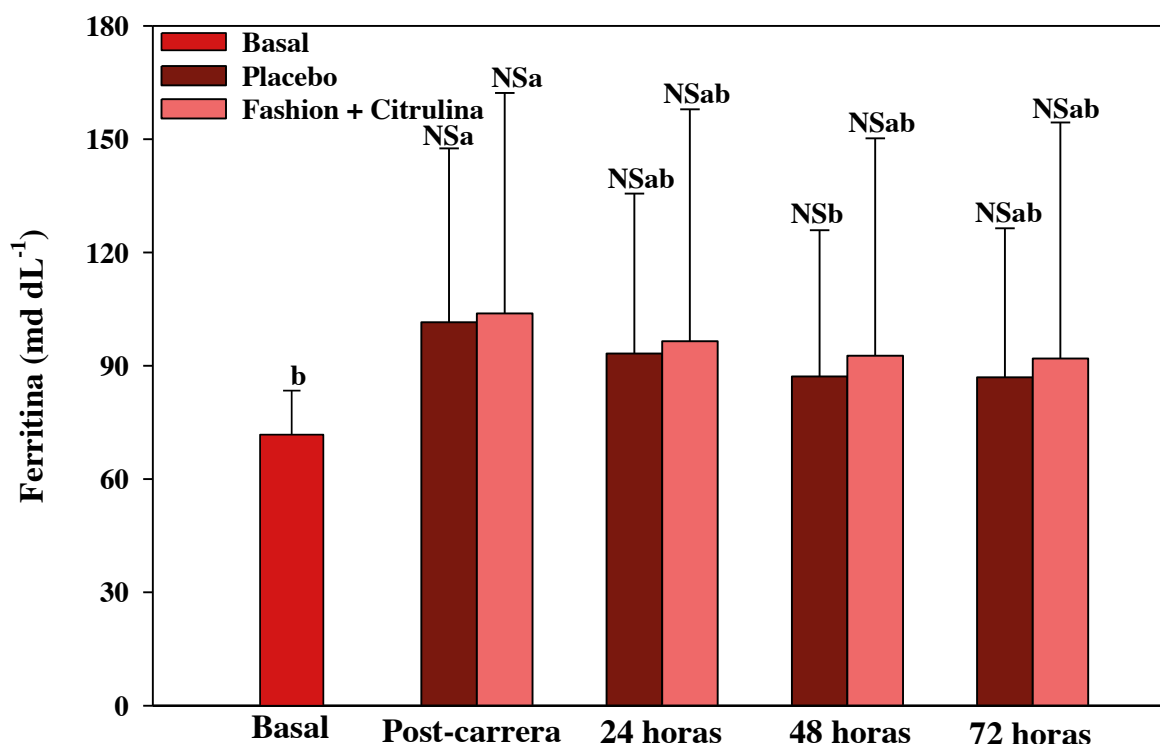


Fig 18. Evolución de la concentración de ferritina plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Proteína C reactiva

Esta proteína es un conocido marcador inflamatorio que puede alcanzar sus niveles máximos horas después del ejercicio físico. En nuestro estudio la máxima concentración sanguínea de proteína C reactiva se detectó a las 24 horas de la carrera, recuperándose a las 72 horas los niveles basales de proteína C reactiva (**Fig. 19**). A lo largo de la evaluación no se observaron diferencias significativas entre las bebidas ensayadas, aunque tras el ejercicio los niveles séricos se mostraban ligeramente más elevados tras la ingesta del zumo enriquecido, pasadas las 24 horas estos niveles sufrieron una disminución mayor en zumo que en placebo, pese a no mostrar diferencias significativas.

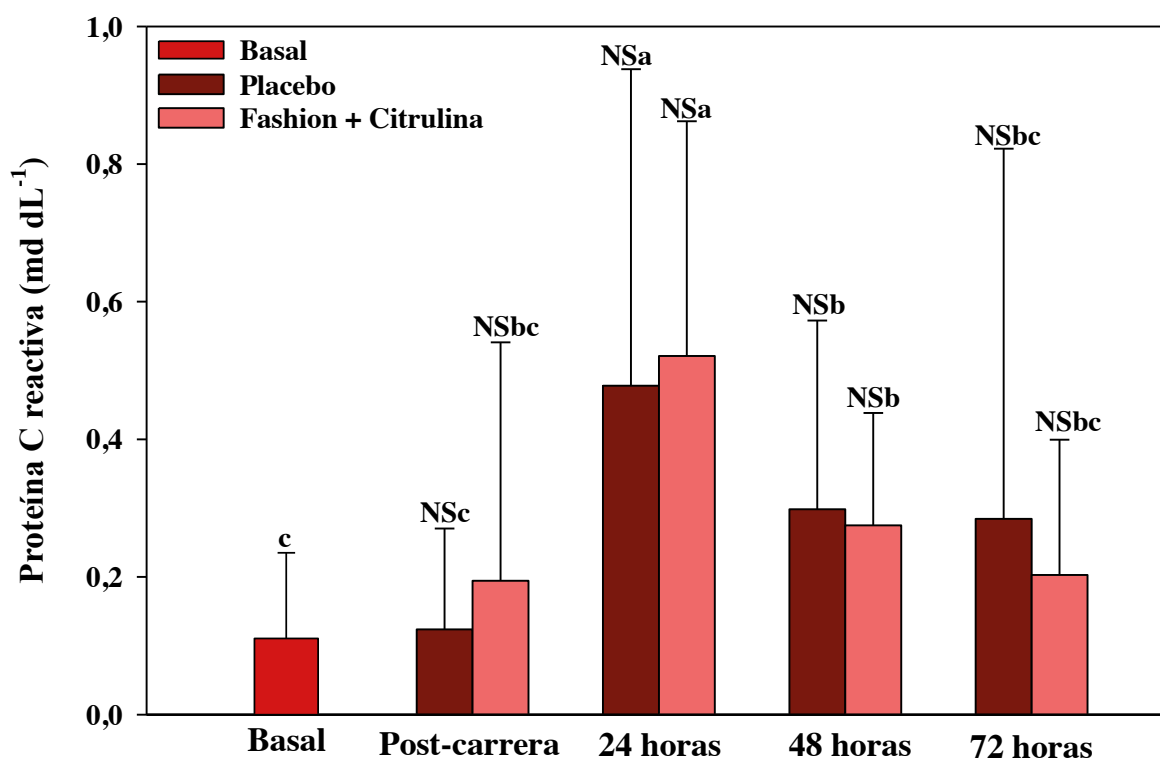


Fig 19. Evolución de la concentración de proteína C reactiva ultrasensible plasmática con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

◆ Transaminasas.

Por otro lado se han evaluado las transaminasas, aspartato-aminotransferasa (AST, también conocida como GOT) y alanino-aminotransferasa (ALT, también conocida como GPT). ALT es más específica de daño hepático que la AST, debido a que la primera se localiza casi exclusivamente en el citosol del hepatocito, mientras que la AST, además del citosol y mitocondria, se encuentra en el corazón, músculo esquelético, riñones, cerebro, páncreas, pulmón, eritrocitos y leucocitos.

La máxima concentración de AST-GOT fue alcanzada tras la carrera y se mantuvo durante 48 horas, con la consiguiente recuperación de los niveles basales a las 72 horas de la carrera en los voluntarios que ingirieron placebo (**Fig. 20**), mientras que los niveles de AST-GOT en los voluntarios que ingirieron zumo de sandía sólo se vio afectado a las 24 horas. Los resultados de nuestro estudio demuestran que no existieron diferencias significativas con las distintas bebidas suministradas (**Fig. 20**).

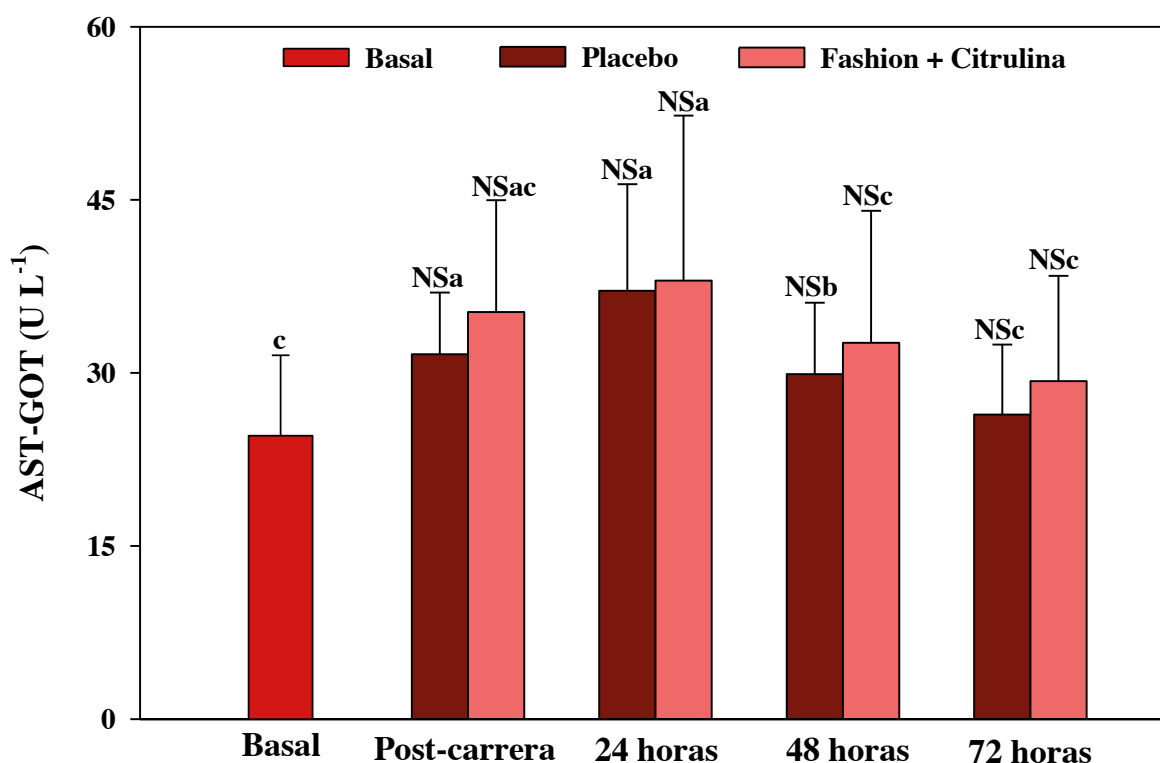


Fig 20. Evolución de la enzima plasmática transaminasa glutámico oxalacética (GOT) o aspartato aminotransferasa (AST) con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

Con respecto a la ALT -GPT, los atletas que ingirieron zumo observaron un incremento postcarrera frente a la estabilidad de este compuesto en aquellos atletas que tomaron el placebo (**Fig. 21**). Los resultados de nuestro estudio demuestran que sólo existieron diferencias significativas con las distintas bebidas suministradas a las 48 h, donde el zumo de sandía incrementó los niveles de ALT-GPT frente al placebo (**Fig. 21**).

Según un estudio realizado por Fallon et al. (2008), después de analizar a 100 atletas de élite jóvenes (entre 16-27 años de edad) de 11 deportes diferentes (56 hombres y 44 mujeres), observaron que los parámetros bioquímicos más alterados eran: la transaminasa AST-GOT (27% de los casos), CK (13%), urea (12%) y la bilirrubina (10%), estando todas ellas por encima de la normalidad. No obstante, Urdampilleta et al. (2013), en su trabajo nos aconsejan que la comparación de datos de los parámetros biológicos entre deportistas es muy compleja debido a la gran variabilidad observada en los datos publicados. Dichas diferencias entre los diferentes deportistas pueden explicarse, en parte, por las diferencias entre disciplinas deportivas, características del método de entrenamiento (objetivos metabólicos o técnico-tácticos), fase de

temporada y características físico-biológicas del propio deportista. Según Urdampilleta et al. (2013) no existe un único parámetro que nos aporte información precisa, ya que estos están influenciados por varios factores, y cumplen con una función reguladora de diferentes procesos metabólicos del organismo.

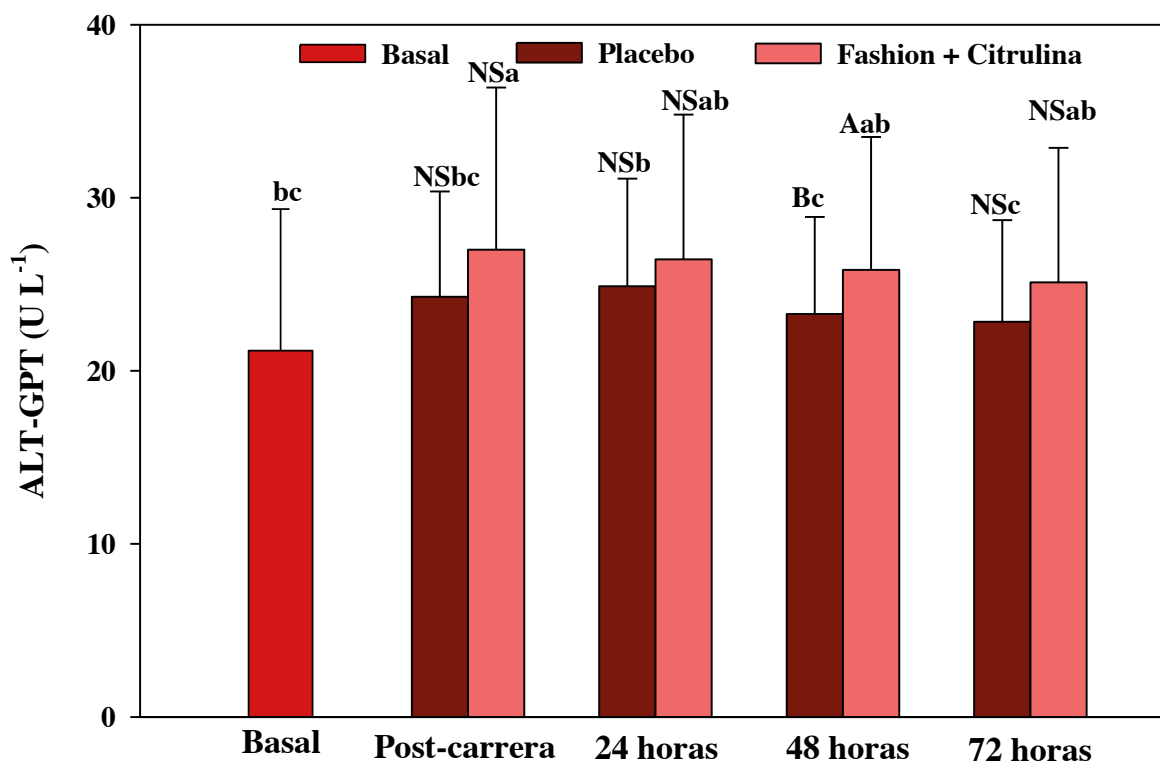


Fig 21. Evolución de la enzima plasmática transaminasa glutámico pirúvica (GPT) o alanina aminotransferasa (ALT) con el tiempo tras la ingesta del placebo respecto del zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina. Letras mayúsculas compara las bebidas para un mismo tiempo y minúsculas la misma bebida a lo largo del tiempo. Diferentes letras muestran diferencias significativas. NS no significativo.

5. CONCLUSIONES GENERALES

5. CONCLUSIONES GENERALES

En el presente estudio, realizado con 21 atletas que corrieron dos medias maratones, con un intervalo de 15 días, en donde se suministraron dos bebidas, un placebo y un zumo de sandía Fashion enriquecido en L-citrulina (3 g) se observaron los siguientes efectos.

La ingesta de zumo enriquecido de sandía *versus* placebo contribuyó de forma significativa a:

- ♥ Una reducción del dolor muscular de aparición tardía.
- ♥ El mantenimiento en la altura de salto postcarrera respecto a la altura de salto precarrera.
- ♥ Incremento de las concentraciones plasmáticas de arginina (32%), al finalizar la carrera.
- ♥ Menor concentración de lactato sérico.
- ♥ Mantenimiento de la glucosa sérica frente al incremento observado, al finalizar la carrera, en los voluntarios que tomaron placebo.
- ♥ Menor concentración de colesterol, a las 24 h de la carrera, en los voluntarios que habían corrido bajo los efectos del zumo enriquecido.
- ♥ Mayor estabilidad de los niveles de transaminasa AST-GOT, indicador del daño hepático, en los voluntarios que ingirieron zumo de sandía que sólo se vio afectado a las 24 h frente a las 72 h de los atletas que tomaron placebo.

Estas observaciones sostienen que la L-citrulina tiene un efecto beneficioso en el metabolismo cuando el organismo está sometido a un ejercicio intenso y prolongado en el tiempo, reduciendo la fatiga muscular, aumentando el rendimiento y acortando la recuperación del deportista tras un ejercicio intenso.

Desafortunadamente, no se observaron diferencias entre los zumos evaluados, en otros parámetros como la enzima creatinfosfoquinasa (CPK), relacionada con la severidad de la fatiga muscular. La heterogeneidad de los atletas, la dureza de la prueba seleccionada y la “modesta” concentración de L-citrulina utilizada en el zumo enriquecido pudo dificultar la observación de otras variables que podrían esperarse significativas con la ingesta de L-citrulina.

6. BIBLIOGRAFÍA

6. BIBLIOGRAFÍA

- Aguiló, A., Taulera, P., Fuentespina, E., Tur, J.A., Córdova, A., Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology & Behaviour*, 84, 1-7.
- Armstrong R.B., (1986). Muscle damage and endurance events. *Sports. Med*: 3(5), 370-81.
- Balon, T.W., Nadler, J. L. (1997). Evidence that nitric oxide increases glucose transport in skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.*, 82, 359–363
- Barton E.R., Morris L., Kawana M., Bish L.T., Toursel T. (2005). Systemic administration of L-arginine benefits mdx skeletal muscle function. *Muscle Nerve*. 32(6),751-60.
- Bendahan D., Mattei J. P., Ghattas B., Confort-Gouny S., Le Guern M. E., Cozzone P. J. (2002). Citrulline malate promotes aerobic energy production in human exercising muscle. *Br. J. Sport Med.*, 36, 282–289.
- Bertias, G., Linardakis, M., Mammias, I., Kafatos, A. (2005). Fruit and vegetable consumption in relation to health and diet of medical students in Crete, Greece. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 75, 107-117.
- Borg G. (1970). Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med*, 2 (2): 92-98.
- Cairns, S. P. (2006) Lactic acid and exercise performance: culprit or friend? *Sports Med.*, 36, 279–291.
- Callis A., Magnan de Bornier B., Serrano J. J., Bellet H., Saumade R. (1991). Activity of citrulline malate on acid-base balance and blood ammonia and amino acid levels. Study in the animal and in man. *Arzneimittel-forsch.* 41, 660-663.
- Carton, R. L., Rhodes, E. C. (1985). A critical review of the literature on ratings scales for perceived exertion. *Sport. Med.* 2(3), 198-222.
- Chen L., Stacewicz-Sapuntzakis M., Duncan C., Sharifi R., Ghosh L., Van Breemen R., Ashton D., Bowen P. (2001). Oxidative DNA damage in prostate cancer patients consuming tomato sauce-based entrees as a whole-food intervention. *J. Natl. Cancer I.*, 93, 1872-1879.
- Collins JK, Wu G, Perkins-Veazie P, Spears K, Claypool PL, Baker RA, Clevidence BA (2007). Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutr* 23:261-266.

- Conley M. (2007). Bioenergética del ejercicio y del entrenamiento. En Baechle T.R. & Earle R.W. Principios del entrenamiento de la fuerza y del acondicionamiento físico. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Córdova A., Sureda A., Tauler P., Ferrer Reyné M.D., Villa G., Tur J.A., Pons A. (2005). Efectos de la citrulina sobre la producción de óxido nítrico y la eliminación del nitrógeno de las proteínas durante una actividad física intensa. Arch. Med. Deporte, 22, 497-498.
- Crenn P., Messing B., Cynober L. (2008). Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. Clin Nutr. 27, 328-39.
- Curis E., Nicolis I., Moinard C., Osowska S., Zerrouk N., Bénazeth S., Cynober L. (2005). Almost all about citrulline in mammals. Amino Acids. 29, 177-205.
- Cutrufello P.T., Gadomski S.J., Zavorsky G.S. (2015). The effect of l-citrulline and watermelon juice supplementation on anaerobic and aerobic exercise performance. J. Sports Sci. 33 (14), 1459-1466.
- Del Coso J., Gonzalez-Millan C., Salinero J.J., Abian-Vicen J., Soriano L., Garde S., Perez-Gonzalez B. (2012). Muscle damage and its relationship with muscle fatigue during a half-iron triathlon. PloS one 7: e43280.
- Drewes, S. E., George, J., Khan, F. (2003). Recent findings on natural products with erectile-dysfunction activity. Phytochemistry, 62, 1019–1025.
- Edwards AJ, Vinyard BT, Wiley ER, Brown ED, Collins JK, Perkins-Veazie P, Baker RA, Clevidence BA (2003). Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and β carotene in humans. J Nutr 133:1043-1050.
- Fish WW, Perkins-Veazie P, Collins JK (2002). A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents. J. Food Compos Anal. 15:309-317.
- Goldberg I. (1994) Functional Foods: Designer Foods, pharmafoods, and nutraceuticals. (I. Goldberg, ed.) pp. 3-4. Aspen Publication, Chapman and Hall, London, UK
- Hagerman F.C. (1984). Applied physiology of rowing. Sports Med. 1(4), 303-326.
- Harrington D.W. (2000). Viral hepatitis and exercise. Med Sci Sports Exerc. 32(Suppl 7), S422-430.
- Hartmann U Mester J. (2000). Training and overtraining markers in selected sport events. Med Sci Sports Exerc. 32(1), 209-215.
- Hickner R. C., Tanner C. J., Evans C. A., Clark P. D., Haddock A., Fortune C., Mccammon M. (2006). L-citrulline reduces time to exhaustion and insulin response to a graded exercise test., Med. Sci. Sport. Exerc. 38(4), 660-666.

- Hickner, R.C., Fisher, J.S., Ehsani, A.A. and Kohrt, W.M. (1997). Role of nitric oxide in skeletal muscle blood flow at rest and during dynamic exercise in humans. *Am. J. Physiol.* 273:H405-H410.
- Hill D.W., Cureton K.J., Grisham S.C., Collins M.A. (1987). Effect of training on the rating of perceived exertion at the ventilatory threshold. *Eur. J. Appl. Physiol.* 56(2), 206-211.
- Hug M., Mullis P.E., Vogt M., Ventura N., Hoppeler H. (2003). Training modalities: over-reaching and over-training in athletes, including a study of the role of hormones. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 17(2), 191-209.
- Ikeda Y, Young LH, Scalia R, Lefer AM (2000). Cardioprotective effects of citrulline in ischemia/reperfusion injury via a non-nitric oxide-mediated mechanism. *Meth Find Exp Clin Pharmacol* 22:563–571.
- Jobgen, W.S., Fried, S.K., Fu, W.J., Meininger, C.J., Wu, G. (2006). Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *J. Nutr. Biochem.* 17: 571-588.
- Joffin, N., Jaubert, A.M., Durant, S., Bastin, J., De Bandt, J.P., Cynober, L., Moinard, C., Coumoull, X., Forest, C. and Noirez, P. (2014). Citrulline reduces glyceroneogenesis and induces fatty acid release in visceral adipose tissue from overweight rats. *Mol. Nutr. Food Res.* 58: 2320–2330.
- Juel, C. (1997). Lactate-Proton Cotransport in Skeletal Muscle. *Physiol Rev.* 77(2), 321-58.
- Kaore, SN, Amanea, HS, Kaore, NM (2013). Citrulline: pharmacological perspectives and its role as an emerging biomarker in future. *Fundamental & Clinical Pharmacology* 27, 35–50.
- Kelijman, M., Frhoman, I. (1991) The role of the cholinergic pathway in growth hormone feedback. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 72: 1081-1087.
- Kirby T.J., Triplett N.T., Haines T.L., Skinner J.W., Fairbrother K.R., McBride J.M. (2012). Effect of leucine supplementation on indices of muscle damage following drop jumps and resistance exercise. *Amino acids* 42, 1987-1996.
- Steven P. Schulman, MD; Lewis C. Becker, MD; David A. Kass, MD; Hunter C. Champion, MD, PhD; Michael L. Terrin, MD; Sandra Forman, MA; Kavita V. Ernst, MD; Mark D. Kelemen, MD; Susan N. Townsend, RN, BS; Anne Capriotti; Joshua M. Hare, MD; Gary Gerstenblith, MD. (2006) L-Arginine therapy in acute myocardial

- infarction the vascular interaction with age in myocardial infarction (VINTAGE MI) Randomized Clinical Trial FREE. *JAMA*, 295, 58-64.
- Little, J.P., forbees, S.C., Candow, D.G., Cornish S.M., Chilibeck, P.D. (2008). Creatine, arginine α -ketoglutarate, amino acids, and médium-chain triglycerides and endurance and performance. *Int. J Sport Nutr Exerc Metab* 18: 493-508.
 - Mandel H, Levy N, Izkovitch S, Korman SH (2005). Elevated plasma citrulline and arginine due to consumption of *Citrullus vulgaris* (watermelon). *J Inherit Metab Dis* 28: 467–472.
 - Manetta J., Brun J.F, Mercier J., Prefaut C. (2000). The effects of exercise training intensification on glucose disposal in elite cyclists. *Int J Sports Med*. 21(5), 338-43.
 - Martínez-Augustín O., Sánchez de Medina F. (2004). Arginina, óxido nítrico y función endotelial. *Ars Pharm*. 45, 303-17.
 - McArdle W.D, Katch F.I., Katch V.L. (2004). Transferencia energética durante el ejercicio en el ser humano. *Fundamentos de fisiología del ejercicio*. 2nd ed. McGraw-Hill; pp. 128–146.
 - McConell, G.K. (2007). Effects of l-arginine supplementation on exercise metabolism. *Curr. Opin Clin Nutr. Metab. Care*, 10, 46-51.
 - McConell, G.K., Huynh, N.N., Lee-Young, R.S., Canny, B.J. and Adley, G.D. (2006). L-arginine infusion increases glucose clearance during prolonged exercise in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 290, E60-E66.
 - Mena P., Maynar M., Gutierrez J.M., Campillo J.A. (1988). Fisiología metabólica de la Vuelta Ciclista Extremadura. *AMD*.19, 233-6.
 - Meneguello M.O., Mendonca J.R., Lancha A.H. Jr, Costa Rosa L.F. (2003). Effect of arginine, ornithine and citrulline supplementation upon performance and metabolism of trained rats. *Cell Biochem. Funct*. 21, 85–91.
 - Mori, M. (2007). Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling. *J. Nutr*. 137, 1616-1620.
 - Murcia, J.L. (2013). Alimentos funcionales: Un mercado al alza que mueve en el mundo cerca de 100.000 millones de euros anuales. *Distribución y Consumo*, 48, 48-50.
 - Noakes T.D., Sharwood K., Speedy D. (2005). Three independent biological mechanisms cause exercise-associated hyponatremia: evidence from 2,135 weighed competitive athletic performances. *Proc Natl Acad Sci* 102, 18550 – 18555.

- Osowska S., Moinard C., Loi C., Neveux N., Cynober L. (2004). Citrulline increases arginine pools and restores nitrogen balance after massive intestinal resection. *Gut*. 53, 1781-1786
- Özcan, S., Şenyuva H.Z. (2006). Improved and simplified liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry method for the analysis of underivatized free amino acid in various food. *J. Chrom. A* 1135:179-185.
- Paterson, E., Gordon, M.H., Niwat, C., George, T.W., Parr, L., Waroonphan, S., Lovegrove, J.A. (2006). Supplementation with fruit and vegetable soups and beverages increases plasma carotenoid concentrations but does not alter markers of oxidative stress or cardiovascular risk factors. *J. Nutr.*, 136, 2849-2855.
- Pérez-Guisado J., Jakeman P. M. (2010). Citrulline malate enhances athletic anaerobic performance and relieves muscle soreness. *J. Strength Cond. Res.* 24, 1215–1222.
- Perkins-Veazie P., Collins J.K., Davis A.R., Roberts W. (2006). Carotenoid content of 50 watermelon cultivars. *J. Agr. Food Chem.*, 54, 2593-2597.
- Perkins-Veazie P., Collins J.K., Pair S.D., Roberts W. (2001). Lycopene content differs among red fleshed watermelon cultivars. *J. Sci. Food Agr.* 81, 983-987.
- Pugh L.G., Corbett J.L., Johnson R.H. (1967) Rectal temperatures, weight losses, and sweat rates in marathon running. *J Appl Physiol* 23: 347–52 .
- Rimando A.M., Perkins-Veazie P. (2005). Determination of citrulline in watermelon rind. *J Chrom A* 1078:196–200.
- Schaefer, A., Piquard, F., Geny, B., Doutreleau, S., Lampert, E., Mettauer, B. and Lonsdorfer, J. (2002). L-arginine reduces exercise-induced increase in plasma lactate and ammonia. *Int. J. Sports Med.* 23, 403–407.
- Schwedhelm E., Maas E., Freese R. (2008) Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine: impact on nitric oxide metabolism. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 65, 51–59.
- Sharp C.P.M., Pearson D.R. (2010). Amino acid supplements and recovery from high-intensity resistance training. *J Strength Cond Res.* 24,1125-1130.
- Spina R. J. (1999). Cardiovascular adaptations to endurance exercise training in older men and women. *Exerc. Sport. Sci. Rev.* 27(3), 317-332.
- Steed J., Gaesser G.A., Weltman, A. (1994). Rating of perceived exertion and blood lactate concentration during submaximal running. *Med. Sci. Sport. Exerc.* 26(6), 797-803.

- Sureda A., Córdova A., Ferrer M. D., Pérez G., Tur J.A., Pons A. (2010). L-citrulline-malate influence over branched chain amino acid utilization during exercise. *Eur. J. Appl. Physiol.* 110, 341–351.
- Sureda A., Córdova A., Ferrer M. D., Tauler P., Pérez G., Tur J. A., Pons, A. (2009). Effects of L-citrulline oral supplementation on polymorphonuclear neutrophils oxidative burst and nitric oxide production after exercise. *Free. Rad. Res.*,43, 828–835.
- Takeda K., Machida M., Kohara A., Omi N., Takemasa T. (2011). Effects of citrulline supplementation on fatigue and exercise performance in mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. 57, 246–250.
- Tarazona-Díaz, M.P. and Aguayo, E. (2013a). Influence of acidification, pasteurization, centrifugation and storage time and temperature on watermelon juice quality. *J. Sci Food Agric* 93, 3863–3869.
- Tarazona-Díaz M P, Alacid F, Carrasco M, Martínez I, Aguayo E (2013b). Watermelon Juice: A Potential Functional Drink for Sore Muscle Relief in Athletes. *J. Agric Food Chem.*, 61: 7522-7528.
- Tarazona-Díaz, M.P, Viegas, J., Molda -Martins M., Aguayo, E. (2011). Bio-active compounds from flesh and by-product of Spanish fresh-cut watermelons cultivars. *J. Sci. Food Agric.* 91:805-812.
- Taylor, C., Rodgers, G., Goodman, C., Baynes, R.D., Bothwell, T.H., Badwoda, W.R., Kramer, F., Hattingh, J. (1987). Hematologic, iron-related, and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise. *Journal of Applied Physiology*, 62, 464-469.
- Thorstensson A., Sjödin B., Tesch P., Karlsson J. (1977). Actomyosin ATPase, myokinase, CPK and LDH in human fast and slow twitch muscle fibres. *Acta Physiol. Scand.* 99(2), 225-9.
- Urdampilleta A., Martínez-Sanz J.M., López-Grueso R. (2013). Valoración bioquímica del entrenamiento: herramienta para el dietista-nutricionista deportivo. *Rev. Esp. Nutr. Hum. Diet.* 17, 73-83.
- USDA. United States Department of Agriculture. (2010). National Nutrient Database for Standard Reference. <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>. Acceso Junio 2015.
- Waugh WH, Daeschner CW, Files BA, McConnell ME, Strandjord SE (2001). Oral citrulline as arginine precursor may be beneficial in sickle cell disease: early phase two results. *J. Natl. Med. Assoc.* 93:363–371.

- Wells G.D., Selvadurai H., Tein I. (2009). Bioenergetic provision of energy for muscular activity. *Paediatric Respiratory Reviews*. 10 (3), 83–90.
- Wijck, K., Wijnands, K.A.P., Meesters, D., Basboonen, B., Van Loon, L.J.C., Buurman, W.A., Dejong, C.H.C., Lenaerts, K., Poeze, M. (2014). L-Citrulline Improves Splanchnic Perfusion and Reduces Gut Injury during Exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 46: 2039-2046.
- Wikerson, J.E., Batterton, D.L., Horvath, S.M. (1975). Ammonia production following maximal exercise: treadmill vs. Bicycle testing. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* 34: 169-172.
- Windmueller H.G., Spaeth A.E. (1981). Source and fate of circulating citrulline. *Am. J. Physiol.* 241, 473-480.
- Wu, G., Collins, J.K., Perkins-Veazie, P., Siddiq, M., Dolan, K.D., Kelly, K.A., Heaps, C.L. and Meininger, C.J. (2007). Dietary supplementation with watermelon pomace juice enhances arginine availability and ameliorates the metabolic syndrome in Zucker diabetic fatty rats. *The Journal of Nutrition*, 137: 2680-2685.
- Zouhal H., Groussard C., Vincent S. (2009) Athletic performance and weight changes during the ‘Marathon of Sands’ in athletes well-trained in endurance. *Int. J. Sport. Med.* 30, 516 – 21

7. ANEXOS

7.A COMITÉ DE BIOÉTICA



Comité de Bioética
de la Universidad Politécnica de Cartagena

Certificado de aprobación
sobre experimentación en humanos o en muestras de origen humano

Juan Monzó Cabrera, Secretario del Comité de Bioética de la Universidad Politécnica de Cartagena.

CERTIFICA:

Que Encama Aguayo Giménez presentó el contrato art. 83 "RESPUESTA AL EJERCICIO DE CARRERA DE MEDIA MARATÓN VALORANDO EL DAÑO MUSCULAR Y RENDIMIENTO TRAS LA INGESTA DE ZUMO DE SANDÍA FASIDON" a la empresa Grupo Fashion (AGF).

Que el Comité de Bioética de la Universidad Politécnica de Cartagena analizó toda la documentación presentada por Encama Aguayo y, por acuerdo de fecha 13 de octubre aprobó informar favorablemente desde el punto de vista bioético el proyecto de investigación de referencia.

Dado el retraso en la convocatoria de este Comité, se acuerda, igualmente, que este informe favorable tenga efecto desde la fecha de inicio del citado proyecto.

Y para que conste y a los efectos que corresponda, firmo la presente con el visto bueno del Presidente del Comité en Cartagena a trece de octubre de dos mil quince.

Vº Bº El Presidente
del Comité de Bioética de la
Universidad Politécnica de Cartagena

Alejandro Díaz Morcillo

Secretario del Comité

7.B TRÍPTICO.

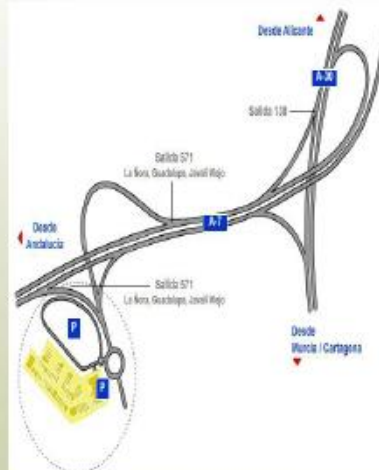
Contacto

Si estás interesado en formar parte de éste proyecto, o si tienes cualquier duda, te animamos a que te pongas en contacto con nosotros.

Teléfono: 628933499

Correo electrónico:
oabellan@alu.ucam.edu

Ubicación del Centro de Investigación de Alto Rendimiento (CIAR – UCAM).



Quiénes somos

La Dra. Encarna Aguayo Giménez es profesora titular en la Escuela de Ingenieros Agrónomos de la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT) y es responsable de la Unidad de Calidad Alimentaria y Salud del Instituto de Biotecnología Vegetal (IBV-UPCT). Entre sus líneas de investigación, junto con la Dra. Ascensión Martínez Sánchez, se encuentra la elaboración y diseño de alimentos funcionales, así como su estudio “in vivo”, optimizando su biodisponibilidad y bioactividad.

El grupo Optimización del Entrenamiento, el Rendimiento Deportivo y el Acondicionamiento Físico es un grupo dedicado al asesoramiento de equipos deportivos para el entrenamiento y la competición. Ofrece Planes de formación sobre el control del entrenamiento a técnicos y entrenadores, desarrolla pruebas de valoración a disciplinas deportivas específicas.



EFFECTOS DEL ZUMO DE SANDÍA EN MEDIA MARATÓN

Estudio científico para corredores de media maratón



¿Prácticas Running y compites?

¿Vas a participar en las próximas medias maratones de Murcia (La Manga) y Puerto Lumbreras?

Si es así...¡Buscamos gente como tú!

¿Das el perfil?

Buscamos gente con las siguientes características:

- Ser hombre.
- Participación en la próxima media maratón de Murcia (La Manga) y de Puerto Lumbreras (ambas).
- Preferiblemente con pulsómetro propio.

“Mens sana in corpore sano”

Estudio científico

En las Universidades Politécnica de Cartagena (UPCT) y en la Universidad Católica de Murcia (UCAM), estamos llevando a cabo un proyecto para el estudio de los efectos del zumo de sandía en el rendimiento en media maratón y necesitamos participantes para el mismo.

¿Y yo qué gano?

A todos los que participen en el estudio, se les obsequiará con una tarjeta regalo de Decathlon por valor de 100 euros, así como la valoración de su condición física, de su estado de salud y análisis de sangre.



Centro de alto rendimiento UCAM. Centro comercial La Noria.

¿En qué consiste?

El día previo a cada una de las medias maratones, así como 24, 48 y 72 horas

UCAM, ubicado en el centro comercial La Noria o al Hospital Virgen de La Caridad de Cartagena (según proximidad del voluntario).

Allí se realizarán las pruebas y valoraciones correspondientes. ¡Solo tardaremos 10 minutos!

Previamente a cada una de las carreras, se os dará un zumo de sandía que se deberá beber, y a continuación se registrarán algunas variables durante la carrera.

Todos los voluntarios estarán sujetos a extracciones de sangre.

tripticos-de-plantilla-11-pixmac-imagen-12252731.jpg

7.C CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PROYECTO ‘RESPUESTA AL EJERCICIO DE CARRERA DE MEDIA MARATÓN VALORANDO EL DAÑO MUSCULAR Y RENDIMIENTO TRAS LA INGESTA DE ZUMO DE SANDÍA FASHION’

Yo,, con DNI:.....

DECLARO:

Haber sido informado/a del estudio y procedimientos de la investigación. Los investigadores que van a acceder a mis datos personales y a los resultados de las pruebas son:

Realización de **dos carreras de media maratón** separadas por un período de quince días a un mes. Dos horas antes de cada carrera, los participantes tomarán un zumo de sandía Fashion (500 ml) mientras que otros tomarán un placebo. Durante e inmediatamente tras finalizar la prueba, todos los sujetos realizarán la misma ingesta de bebidas isotónicas. Además se estandarizará la dieta desde las 24 horas antes de la prueba hasta las 72 horas tras la finalización de la misma.

Valoración previa a la primera media maratón (día previo):

- Encuesta de salud y entrenamiento.
- Consentimiento informado.
- Variables antropométricas básicas.
- Extracción sanguínea.

Variables:

- Rendimiento en cada media maratón (tiempo).
- Salto vertical antes y después de las pruebas (CMJ).
- Frecuencia cardíaca durante las carreras.
- Percepción subjetiva del esfuerzo al finalizar cada prueba.
- Concentración de lactato capilar al finalizar la prueba.
- Tras la prueba, a las 24, 48 y 72 horas: percepción del daño muscular (1-5).
- Analítica hemograma completo: el día previo a la prueba, a las 24, 48 y 72 horas.

Asimismo, he podido hacer preguntas del estudio, comprendiendo que me presto de forma voluntaria al mismo y que en cualquier momento puedo abandonarlo sin que me suponga perjuicio de ningún tipo.

CONSIENTO:

- 1.-) Someterme a las siguientes pruebas exploratorias (en su caso):
- 2.-) El uso de los datos obtenidos según lo indicado en el párrafo siguiente:

En cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, le comunicamos que la información que ha facilitado y la obtenida como consecuencia de las exploraciones a las que se va a someter pasará a formar parte del fichero del Grupo de Investigación de Calidad Alimentaria y Salud del Instituto de Biotecnología Vegetal de la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT) y sólo tiene la finalidad de INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA. Tiene derecho a acceder a esta información y cancelarla o rectificarla, dirigiéndose a este Grupo de Investigación. Esta Universidad garantiza la adopción de las medidas oportunas para asegurar el tratamiento confidencial de dichos datos. Además, podrían componer los resultados para una publicación científica.

En Murcia, a 15 de Septiembre de 2015

Los investigadores representantes de las diferentes Universidades

Fdo:.....Dra. Encarna Aguayo Giménez (Universidad Politécnica de Cartagena)



Fdo:.....Dr. Fernando Alacid Cárceles (Universidad Católica de San Antonio)



7.D CUESTIONARIO DE SALUD Y ENTRENAMIENTO

Nombre y Apellidos:

- Edad:
- Talla:
- Peso:
- Mejor marca personal en media maratón:
- Años experiencia deportiva:
- Años experiencia en atletismo:
- Minutos entrenamiento diario:
- Sesiones de entrenamiento semanal:
- Horas de entrenamiento semanal:
- N° entrenamiento de fuerza semana:
- ¿Has sufrido alguna lesión durante los últimos seis meses? ¿Cuál?
- ¿Utilizas algún tipo de suplementación deportiva? Descríbela

7.E PAUTAS / SUGERENCIAS DE ENTRENAMIENTO Y NUTRICIONALES A TENER EN CUENTA PARA AFRONTAR UNA COMPETICIÓN

- Dos días previos a la competición y durante el estudio NO tomar sandía o derivados de ésta (zumos,...)
- Dos días antes de la competición intenta descansar. El día previo a la competición puedes salir a activar la musculatura (dependiendo de tu nivel 15-30 minutos suaves serán suficientes).
- Tres días previos a la competición es interesante comer alimentos ricos en carbohidratos (Arroz, pasta, cereales...), así como evitar las grasas.
- El día de la competición, realiza la última comida, rica en carbohidratos, de 3 a 6 horas antes a la hora de salida, para evitar problemas estomacales.
- Dos horas antes de la salida, la organización del estudio te dará un zumo que servirá para tu hidratación.
- Desde los 30 minutos previos a la salida hasta la hora de salida, no tomar alimentos ricos en carbohidratos.
- Durante la carrera, utiliza la estrategia alimenticia que utilizas comúnmente y recuerda qué ingieres, porque posteriormente, recogeremos esos datos. Lo que consumes durante la carrera, te lo facilitará la organización del estudio.
- Después de llegar a meta y una vez te hallamos realizado la extracción sanguínea, puedes tomar líquidos y comida. Intenta que estos alimentos sean ricos en carbohidrato y proteína, para reponer lo que has gastado durante la carrera. También te preguntaremos sobre esto.

7.F REGISTRO DE ENTRENAMIENTO

	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
ENTRENAMIENTO REALIZADO (MINUTOS, PULSACIONES, CUANTA MÁS INFORMACIÓN, MEJOR)							

	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
ENTRENAMIENTO REALIZADO (MINUTOS, PULSACIONES, CUANTA MÁS INFORMACIÓN, MEJOR)							PRIMERA MEDIA MARATÓN

	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
ENTRENAMIENTO REALIZADO (MINUTOS, PULSACIONES, CUANTA MÁS INFORMACIÓN, MEJOR)							

	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
ENTRENAMIENTO REALIZADO (MINUTOS, PULSACIONES, CUANTA MÁS INFORMACIÓN, MEJOR)							SEGUNDA MEDIA MARATÓN