



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**EVALUACIÓN DEL ESTADO ANTIOXIDANTE DE
NADADORES TRATADOS CON *Spirulina maxima***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS

PRESENTA

MARÍA JIMENA REYES IRAZOQUE

CDMX. 2017





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: M. en C. LUCÍA CORNEJO BARRERA
VOCAL: Dr. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI
SECRETARIO: Dra. PATRICIA VICTORIA TORRES DURÁN
1er. SUPLENTE: Dra. CLAUDIA TERESA TOVAR PALACIO
2º SUPLENTE: M. en C. TANIA GÓMEZ SIERRA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**LABORATORIO 10 DEL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA, FACULTAD DE MEDICINA.
CIUDAD UNIVERSITARIA.**

ASESOR DEL TEMA:

Dra. PATRICIA VICTORIA TORRES DURÁN

SUSTENTANTE:

MARÍA JIMENA REYES IRAZOQUE

Agradecimientos

A la DGAPA con el apoyo del PAPIIT, por su apoyo al proyecto con clave IN218816.

A la Facultad de Medicina de la UNAM, por todo el apoyo proporcionado a este proyecto.

Al laboratorio 10 del departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la UNAM, lugar en el que se llevó a cabo este proyecto.

Al equipo Representativo de Natación de la UNAM, y al personal que trabaja en la Alberca Olímpica 1968, por su participación y por todo el apoyo brindado.

Al personal de la Unidad de Medicina del Deporte por el apoyo brindado a este proyecto.

Y sobre todo agradezco a la UNAM y a la Facultad de Química por todo lo que me han dado en mi vida profesional. Me siento muy orgullosa de formar parte de ellas.

Índice

GLOSARIO DE ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN	4
I. INTRODUCCIÓN.....	5
II. MARCO TEÓRICO	7
1. ACTIVIDAD FÍSICA Y EJERCICIO.....	7
1.1. <i>Fisiología del ejercicio.....</i>	<i>7</i>
1.1.1. Sistema muscular	8
1.1.1.1. Músculo esquelético.....	8
1.1.1.2. <i>Efectos del entrenamiento físico sobre las fibras musculares</i>	<i>10</i>
2. EJERCICIO Y METABOLISMO	11
2.1. <i>Vías metabólicas involucradas en el ejercicio.....</i>	<i>12</i>
2.1.1. Sistema de los fosfágenos o fosfocreatina	12
2.1.2. Glucólisis anaeróbica o glucólisis láctica	13
2.1.3. Vía aeróbica o respiración mitocondrial	14
3. LA NATACIÓN	16
4. ESTRÉS OXIDATIVO	16
4.1. <i>Radicales libres y especies reactivas del oxígeno</i>	<i>17</i>
4.1.1. Formación de especies reactivas del oxígeno y el ejercicio	18
4.2. <i>Lipoperoxidación y marcadores del daño oxidante</i>	<i>19</i>
5. SISTEMA ANTIOXIDANTE	21
5.1. <i>Antioxidantes enzimáticos.....</i>	<i>22</i>
5.1.1. Superóxido dismutasa	22
5.1.2. Catalasa.....	22
5.1.3. Glutación peroxidasa	22
5.2. <i>Antioxidantes no enzimáticos.....</i>	<i>23</i>
6. NUTRICIÓN	25
6.1. <i>Compuesto nutracéutico.....</i>	<i>26</i>
6.1.1. Regulación de los nutracéuticos	28
7. SPIRULINA MAXIMA	29
III. HIPÓTESIS.....	32
IV. OBJETIVOS	32
1. OBJETIVO GENERAL.....	32
2. OBJETIVOS PARTICULARES	32
V. DISEÑO DEL EXPERIMENTO	33
DIAGRAMA DEL DISEÑO DE EXPERIMENTO.....	35
VI. METODOLOGÍA	36
1. TÉCNICAS BIOQUÍMICAS	36
1.1. <i>Enzimas.....</i>	<i>36</i>
1.1.1. Superóxido dismutasa	36
1.1.2. Catalasa.....	36
1.1.3. Glutación peroxidasa	36

1.2.	<i>Compuestos no enzimáticos</i>	36
1.2.1.	Glutati3n reducido (GSH).....	36
1.2.2.	Productos finales de oxidaci3n TBARS (sustancias reactivas al 3cido tiobarbit3rico).....	37
2.	TRATAMIENTO DE DATOS	37
3.	ESTADÍSTICA	37
VII.	RESULTADOS	38
1.	ENZIMAS	38
1.1.	<i>Super3xido dismutasa</i>	38
1.2.	<i>Catalasa</i>	38
1.3.	<i>Glutati3n peroxidasa</i>	38
2.	COMPUESTOS NO ENZIMÁTICOS	42
2.1.	<i>Glutati3n</i>	42
2.2.	<i>Especies reactivas al 3cido tiobarbit3rico (TBARS)</i>	42
VIII.	DISCUSI3N	45
IX.	CONCLUSI3N	50
X.	COMENTARIOS SOBRE EL PROYECTO	50
	ANEXO I. DESCRIPCI3N DE LAS T3CNICAS BIOQUÍMICAS EMPLEADAS.	51
XI.	BIBLIOGRAFÍA	56

Glosario de abreviaturas

Abreviatura	Significado
ADN	ácido desoxirribonucleico
ADP	adenosín difosfato
AMP	adenosín monofosfato
ATP	adenosín trifosfato
CAT	catalasa
CO ₂	dióxido de carbono
Cr	creatina
DHA	ácido docosahexaenoico
DSHEA	<i>Ley de Educación y Salud de los Suplementos dietéticos (Dietary Supplement Health and Education Act of 1994)</i>
DTNB	ácido (5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzóico))
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
EFSA	Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food and Safety Authority)
ERNs	especies reactivas del nitrógeno
EROs	especies reactivas del oxígeno
ES	error estándar
FAD	flavín adenín dinucleótido
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Food and Agriculture Organization)
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration)
FINA	Federación Internacional de la Natación
FMN	Federación Mexicana de la Natación

GPx	glutación peroxidasa
GR	glutación reductasa
GRAS	Generalmente Reconocido como Seguro (Generally Recognized as Safe)
GSH	glutación
GSSG	glutación disulfuro
H ₂ O	molécula del agua
H ₂ O ₂	peróxido de hidrógeno
HO•	radical hidroxilo
HCl	ácido clorhídrico
IMP	ácido inosínico
MDA	malonaldehido
Na ₂ CO ₃	carbonato de sodio
Na ₂ HPO ₄	fosfato dibásico de sodio
NAD ⁺	nicotinamida adenina dinucleótido (oxidado)
NADH	nicotinamida adenina dinucleótido (reducido)
NADP ⁺	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (oxidado)
NADPH	nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (reducido)
NBT	nitroazul de tetrazolio
NH ₄ ⁺	ión amonio
NO	óxido nítrico
O ₂ ^{•-}	ión superóxido
¹ O ₂	oxígeno singulete
OMS/WHO	Organización Mundial de la Salud (World Health Organization)
PCr	fosfocreatina
Pi	fosfato inorgánico
RAE	Real Academia Española
RO• y ROO•	radicales alcoxi y peroxi

ROH	alcohol
ROOH	hidroperóxidos
SOD	superóxido dismutasa
TBA	ácido tiobarbitúrico
TBARS	especies reactivas al ácido tiobarbitúrico
TEP	1,1,3,3- tetraetoxipropano
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
VO _{2max}	volumen máximo de oxígeno que el organismo puede transportar en un minuto

Resumen

La *Spirulina* es una cianobacteria, la cual crece en aguas alcalinas en aéreas tropicales y subtropicales. Existen tres especies estudiadas: *Spirulina platensis*, *Spirulina fusiformis* y *Spirulina maxima*. Se ha reportado que la *Spirulina* es una excelente fuente de micro y macro nutrientes, tiene un contenido de proteína de entre 60 y 70%, 10 veces mayor al del frijol de soya, y tres veces mayor al del filete de res. Su perfil de aminoácidos es considerado de alto valor biológico y de fácil y rápida digestión, según los valores estipulados por FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/ World Health Organization).

Además de su alto valor nutrimental, se ha demostrado que tiene efectos antioxidantes en el organismo humano. Es por eso que en este estudio se evaluaron los efectos de la *Spirulina maxima* sobre el estado antioxidante de un grupo de varones dedicados a la natación, pertenecientes al equipo representativo de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), como estudio piloto.

En este estudio, se planteó como hipótesis que la *Spirulina maxima* mejoraría el estado antioxidante de los participantes. Para comprobar esta hipótesis, se formaron dos grupos, uno que consumió *Spirulina maxima* (6 g/día) y otro que consumió un placebo. Antes del tratamiento se tomaron muestras de sangre de cada participante, y posteriormente, se realizaron pruebas bioquímicas a partir del plasma sanguíneo para determinar la actividad de las enzimas superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa; así como la concentración de glutatión y TBARS. Después de 12 semanas de tratamiento se volvieron a realizar las determinaciones mencionadas.

Al término del estudio se encontró que mejoró el sistema antioxidante de los participantes que consumieron *Spirulina maxima*, ya que mostraron un aumento en la actividad de la glutatión peroxidasa, y en la concentración de glutatión, asimismo hubo un descenso en la concentración de TBARS en plasma.

I. Introducción

El hombre en la antigüedad solía recorrer grandes distancias en busca de alimento, lo que implicó que tuviera que ejercitar su cuerpo día a día, ya que en gran medida la obtención de alimentos dependía de la destreza y fuerza de su cuerpo, así la actividad física es una actividad inherente al ser humano, a partir de la cual este ha desarrollado habilidades motrices destacables, mismas que con el paso del tiempo se han transformado en lo que hoy se conoce como deporte de competencia (López, 2006).

Debido a las exigencias del deporte muchas veces es necesario que los atletas añadan a su dieta suplementos o complementos alimenticios que les ayuden a mantener el funcionamiento óptimo del organismo (Palacios *et al.*, 2009).

En los últimos años los investigadores se han interesado en las microalgas o cianobacterias, a causa de sus propiedades químicas, biológicas y nutricionales; algunas de estas cianobacteria son la *Spirulina*, *Chlorella* y *Dunaliella* (Chamorro *et al.*, 2015).

La *Spirulina* es una cianobacteria que crece en aguas alcalinas en áreas tropicales y subtropicales, la han nombrado “alga *Spirulina*”. Existen tres especies estudiadas: *Spirulina platensis*, *Spirulina fusiformis* y *Spirulina maxima* (Chamorro *et al.*, 2015).

El cultivo de *Spirulina maxima* se ha desarrollado de manera óptima en aguas alcalinas (pH 9-11), en lugares como el lago de Texcoco o el lago de Chad en África. Su biomasa se ha utilizado como alimento y se ha consumido desde la antigüedad. En 1941 se describió por primera vez que la tribu Kanenbu, que habita al norte de la República de Chad, consumía un puré conocido como *Dihé*, que significa “madre salsa”, elaborado con *Spirulina platensis*. En el caso de Mesoamérica, en la época prehispánica se consumía *Spirulina maxima*; Bernal Díaz del Castillo describió que los aztecas recolectaban el alga en forma de lodo al cual llamaban *tecuítlatl*, que significa en náhuatl “lodo o residuo de piedra”; una

vez que el alga se recolectaba se ponía a secar y ésta se mezclaba con el maíz para preparar otros alimentos (Luqueño *et al.*, 2011).

En la actualidad se comercializa de manera importante en Asia, Europa, Norte América y Sudamérica. Aún cuando crece de forma natural en lagos, su producción se realiza en estanques o biorreactores, generando una producción anual de tres mil a cuatro mil toneladas (Chamorro *et al.*, 2015).

Por otra parte se ha reportado que la *Spirulina* es una excelente fuente de micro y macro nutrientes. Tiene un contenido de proteína entre 60 y 70%, 10 veces mayor al del frijol de soya y tres veces mayor al del filete de res. Su perfil de aminoácidos es considerado de alto valor biológico y de fácil y rápida digestión, según los valores estipulados por FAO/WHO (Chamorro *et al.*, 2015).

Además de su alto valor nutricional, se ha demostrado que tiene efectos antioxidantes tanto en modelos murinos como en humanos (Lu *et al.*, 2006; Bermejo *et al.*, 2008; Kalafati *et al.*, 2010, Torres-Durán *et al.*, 2012).

II. Marco teórico

1. Actividad física y ejercicio

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), se considera actividad física a cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que exija un gasto de energía. Sin embargo, hay que diferenciar la actividad física del ejercicio, debido a que el ejercicio es una actividad planificada y repetitiva, que tiene por objeto la mejora o mantenimiento de uno o más componentes de la aptitud física. La actividad física se considera como cualquier actividad que realiza el cuerpo, como la limpieza del hogar, jugar, caminar, etc. (OMS, 2016).

El término ejercicio proviene del latín “*exercitium*”, palabra que los romanos la empleaban para referirse a los movimientos corporales repetidos (López, 2006).

En tanto el Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española, define “ejercicio” como *cualquier movimiento corporal repetido y destinado a mantener o mejorar la salud* (RAE, 2016).

También es posible definir al ejercicio cómo una serie de movimientos corporales repetitivos los cuales aumentan la frecuencia cardiaca basal y la sudoración (Zabala, 2007).

1.1. Fisiología del ejercicio

La fisiología del ejercicio es la ciencia que estudia el funcionamiento de los órganos, aparatos y sistemas que componen el organismo humano durante el ejercicio a nivel celular como a nivel integral, la interrelación existente con el medio externo, así como, los mecanismos de regulación e integración funcional que hacen posible el ejercicio. También abarca, el estudio de las modificaciones estructurales y funcionales que la práctica del ejercicio conlleva (López, 2006).

De acuerdo a la American Physiological Society, el campo de estudio de la fisiología del ejercicio incluye tres aspectos (López, 2006):

- a) El estudio del funcionamiento e interacciones de los órganos, aparatos y sistemas del cuerpo humano durante el ejercicio.
- b) El estudio de los mecanismos que limitan el rendimiento y funcionamiento de los órganos y sistemas en condiciones de estrés severo.
- c) El estudio de las adaptaciones o cambios temporales ocasionados por el ejercicio en la estructura y funciones de los órganos, y sistemas que integran el cuerpo humano.

1.1.1. Sistema muscular

Un músculo es un órgano compuesto por fibras, que mediante la contracción y relajación sirve para producir el movimiento de los seres vivos. En todos los seres vivos vertebrados, el sistema muscular es el que permite que el esqueleto se mueva, se mantenga firme y también dé forma al cuerpo. Aproximadamente 40% del cuerpo humano está constituido por músculos (Fernández, 2006).

Existen tres tipos de tejido muscular: a) el tejido muscular estriado cardiaco, que es exclusivo del corazón, el cual permite efectuar la contracción para bombear la sangre al resto del cuerpo; b) el tejido muscular liso o involuntario, que recubre órganos como las arterias, los órganos del sistema digestivo, el útero, etc.; c) el tejido muscular esquelético o voluntario, el cual recubre el esqueleto y es responsable de su movimiento (Kenney, 2012).

1.1.1.1. Músculo esquelético

Los músculos esqueléticos son los responsables de la postura y el movimiento del esqueleto. Realizan su función gracias a la posibilidad de transformar la energía química en energía mecánica (Billat, 2002).

Las células musculares (miocitos) o fibras musculares, llamadas así por su forma alargada, constituyen el tejido muscular. Cada fibra muscular individual es un largo y fino cilindro que se extiende a lo largo de todo el músculo. Cada fibra contiene miofibrillas; las miofibrillas son estructuras que contienen proteínas contráctiles, miosina, en el caso de las fibras o filamentos gruesos, y actina en el caso de los finos o delgados (imagen 1). Es por esto que las fibras musculares son las responsables de la contracción muscular y de realizar un amplio rango de demandas funcionales, desde movimientos de alta precisión hasta contracciones máximas (Billat, 2002).

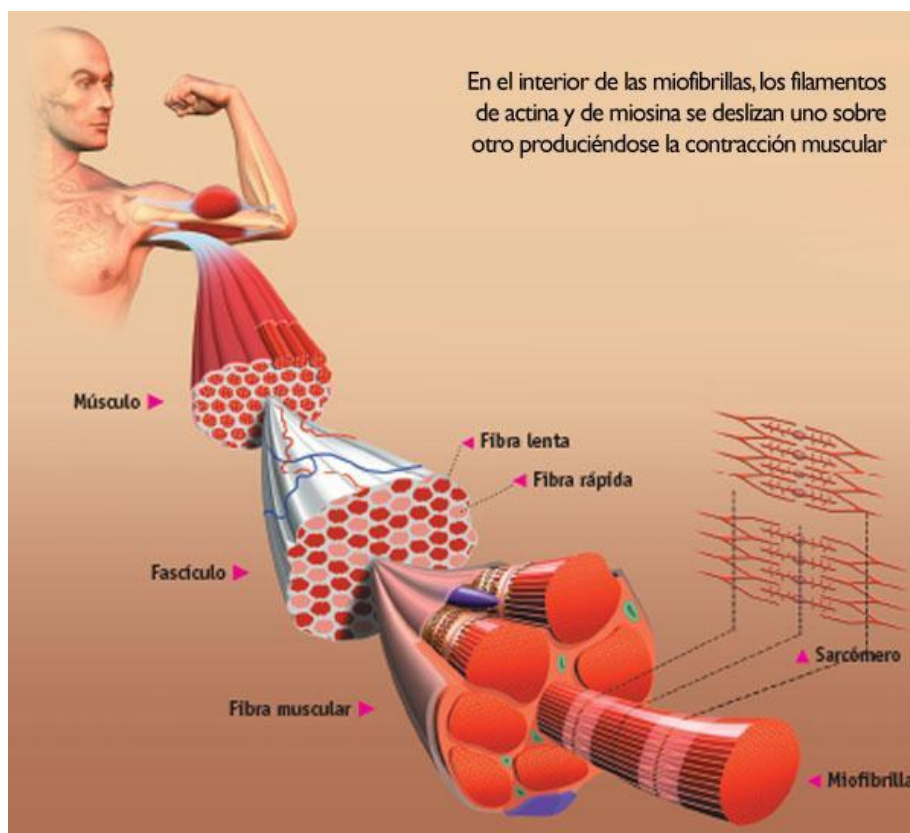


Imagen 1. Esquema de la morfología del músculo esquelético (Nutrición Salud y Deporte, 2011).

Existen distintos tipos de fibras musculares, las cuales poseen características funcionales, metabólicas y moleculares distintas. En los humanos se encuentran dos tipos de células: las tipo I, también conocidas como “lentas o rojas”; y las tipo II, “rápidas o blancas” (Morán, 2006).

Estos tipos de fibras se encuentran dentro de cada músculo en proporciones variables. La composición fibrilar de un músculo depende de diversos factores, como el genético, el patrón de uso, el nivel de entrenamiento físico y la edad (Morán, 2006).

A continuación se presentan características de cada tipo de fibra muscular:

Tabla 1. Características de las fibras musculares

Característica	Lentas (tipo I o rojas)	Rápidas (tipo II o blancas)
Diámetro	Intermedio	Pequeño
Contenido de glucógeno	Bajo	Alto
Resistencia a la fatiga	Alta	Baja
Capilares	Muchos	Pocos
Contenido de mioglobina	Alto	Bajo
Velocidad de contracción	Lenta	Rápida
Actividad ATPasa	Baja	Alta
Sistema energético predominante	Aeróbico	Anaeróbico
Contenido de mitocondrias	Alto	Bajo

(Morán, 2006)

1.1.1.2. Efectos del entrenamiento físico sobre las fibras musculares

A pesar de que cierto tipo de fibras predomina en cada músculo, todos se conforman por una mezcla de éstas; de esta manera el músculo esquelético realiza diversas tareas, lo cual es muy importante para el rendimiento humano (Kenney, 2012).

En los deportistas de alto rendimiento que practican disciplinas de resistencia (maratón, ciclismo, canotaje o natación) el porcentaje de fibras tipo I está en el rango de 60- 65%; mientras que en los deportistas que practican disciplinas de fuerza (halterofilia, lanzamiento de bala y jabalina, gimnasia) los músculos que se utilizan presentan un porcentaje de fibras tipo II superior a 65% (Morán, 2006).

2. Ejercicio y metabolismo

Cuando se lleva a cabo el ejercicio, el organismo utiliza diversas vías o rutas metabólicas, a partir de las cuales se consigue la energía necesaria para realizar la función deseada. Esta energía se obtiene por medio de la molécula ATP (adenosín trifosfato), responsable de proveer de energía a las células del organismo (Trujillo, 2012).

El ATP es la fuente de energía inmediata. Todas las células tienen una concentración determinada, pero las reservas se agotan rápidamente por lo que es necesario regenerarlo. Durante el ejercicio, el músculo debe obtener sustratos intra y extracelularmente (fosfocreatina, glucógeno, glucosa y ácidos grasos) para generar ATP, y así satisfacer la demanda energética, es decir transformar la energía química en energía mecánica, que se utilizará en el proceso de la contracción muscular (Baker *et al.*, 2010).

Durante el ejercicio se activan dos tipos de metabolismo: el aeróbico y el anaeróbico, y a partir de éstos se despliegan diversas vías para generar el ATP, como se muestra en la imagen 2.

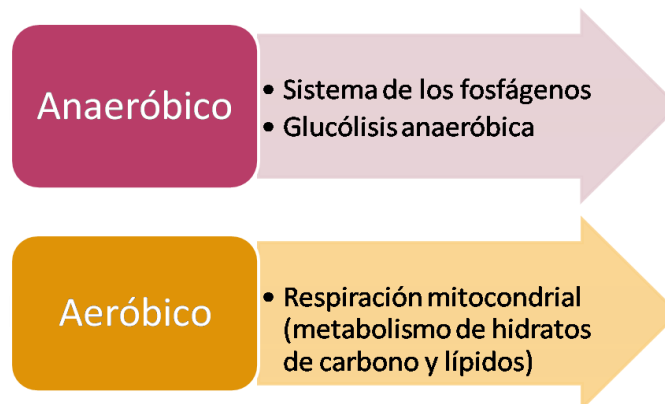


Imagen 2. Tipos de metabolismo que actúan durante el ejercicio.

Estas vías energéticas no actúan de manera independiente. Cuando un individuo realiza ejercicio cada sistema energético converge y contribuye a satisfacer las necesidades energéticas del organismo. En la imagen 3, se presenta la predominancia de un sistema energético sobre otro según el tiempo en el que se

desarrolle el ejercicio, por ejemplo, en una carrera de 100 m predomina el sistema de los fosfágenos y/o el sistema de glucólisis anaeróbica o anaeróbico láctico, mientras que en una carrera de 10, 000 m el sistema predominante es el aeróbico (Fernández, 2006).

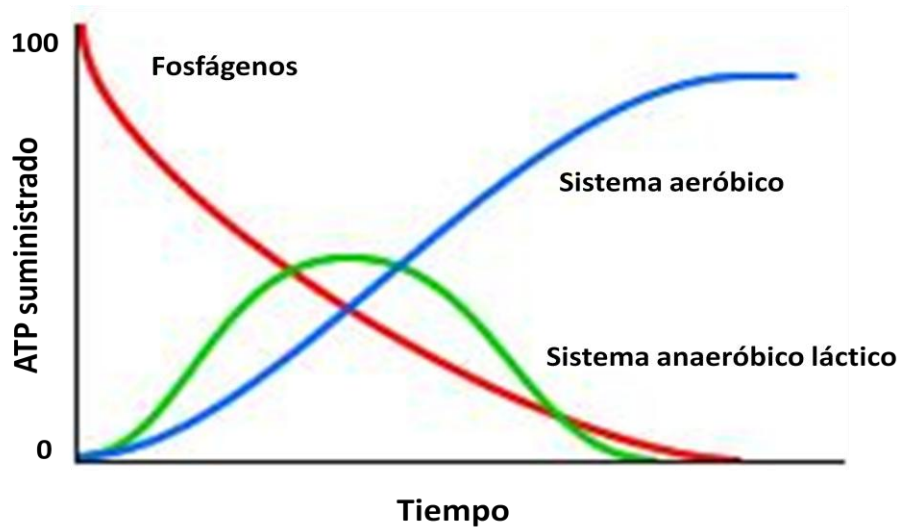


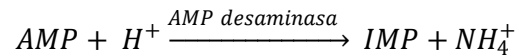
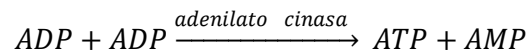
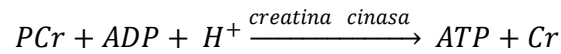
Imagen 3. Interacción entre las vías metabólicas durante el ejercicio (Shopecum, 2014).

2.1. Vías metabólicas involucradas en el ejercicio

2.1.1. Sistema de los fosfágenos o fosfocreatina

Los fosfágenos o fosfatos de alta energía, adenosín monofosfato (AMP), adenosín difosfato (ADP), ATP y fosfocreatina (PCr), son los responsables de proveer energía a las células de manera inmediata. Al ser una ruta no dependiente del oxígeno, no es necesario llevar a cabo varias y complejas reacciones metabólicas para generar y liberar el ATP, como en otras vías (Baker *et al.*, 2010).

La generación de ATP a partir de los fosfágenos se resume de la siguiente manera:



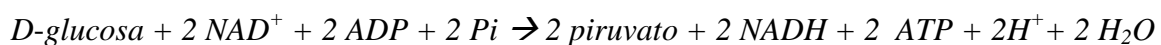
(Baker *et al.*, 2010)

A partir de la vía de los fosfágenos, las fibras rápidas del músculo, se estimulan para realizar la contracción muscular. Es la vía principal al realizar ejercicios súbitos, como golpes, saltos, sprints, giros, etc., pero también se activa cuando el ejercicio es prolongado. Esta vía metabólica es muy breve, a los cinco segundos se obtiene su utilización máxima, continua teniendo un buen efecto hasta los 10 segundos, pero a los 20 segundos sus reservas se han agotado y tarda alrededor de 13 minutos en recuperarse por completo (Baker *et al.*, 2010).

2.1.2. Glucólisis anaeróbica o glucólisis láctica

Conforme el ejercicio continúa, la generación de ATP comienza a depender de la glucosa y el glucógeno que se encuentran en el músculo. Esto es resultado de la respuesta al AMP que se liberó en la vía de los fosfágenos, el calcio y el fosfato inorgánico (*Pi*) que se encuentran en la célula, ambos generados por la contracción muscular que a su vez incrementa la glucosa en sangre. La glucosa permite obtener energía, tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas (Baker *et al.*, 2010).

La glucólisis es una vía metabólica que ocurre en el citosol, donde la glucosa pasa por una serie de reacciones hasta ser convertida en dos moléculas de piruvato y dos moléculas de ATP, como se muestra en la siguiente ecuación:



(Baker *et al.*, 2010)

Una parte del piruvato generado se transformará en lactato por medio de la lactato deshidrogenasa; según la acidez del medio, el lactato pasará a ser ácido láctico, mismo que está relacionado con la fatiga muscular (Baker *et al.*, 2010).

Esta vía implica muchas más reacciones que el sistema de los fosfágenos, por lo tanto su velocidad de recuperación de ATP es menor, pero mayor a la tasa de recuperación de ATP de la respiración mitocondrial (Baker *et al.*, 2010). Ver imagen 4.

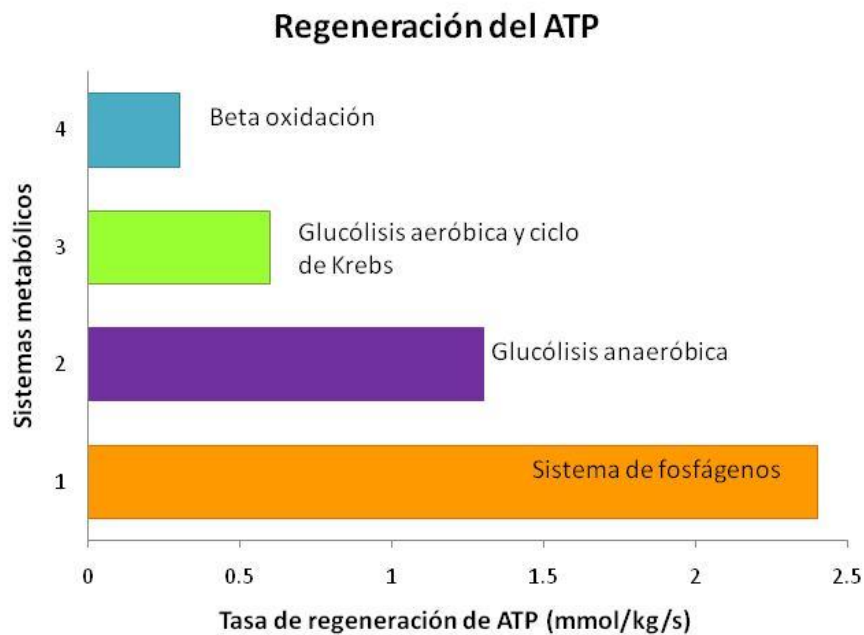


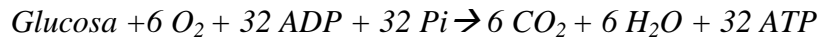
Imagen 4. Tasa de recuperación del ATP en los distintos sistemas metabólicos (Baker *et al.*, 2010).

2.1.3. Vía aeróbica o respiración mitocondrial

Cuando el ejercicio es prolongado (mayor a 20 min), el ATP se genera por medio del metabolismo oxidativo, los sustratos a partir de los cuales se genera son principalmente el glucógeno que se encuentra en los músculos, la glucosa y los ácidos grasos libres (Hargreaves *et al.*, 2000).

El piruvato proveniente de la glucólisis entra a la mitocondria donde se lleva a cabo el ciclo de Krebs, que posteriormente continuará con la cadena de transporte de electrones hasta obtener el ATP (Hargreaves *et al.*, 2000).

El proceso total de obtención de ATP, a partir de la glucosa, se resume en la siguiente ecuación:



(Hargreaves *et al.*, 2000)

La oxidación de los lípidos ocurre dentro de la mitocondria. El ácido palmítico es el principal ácido graso que se cataboliza en el músculo, tanto en reposo como en contracción. El ácido palmítico debe ser activado por la coenzima A para que pueda entrar a la mitocondria y formar parte de la β - oxidación (Hargreaves *et al.*, 2000).

En la imagen 5 se presenta un esquema de cómo ocurren las reacciones pertenecientes a cada vía metabólica, dónde se llevan a cabo, y cómo es que se conectan entre sí.

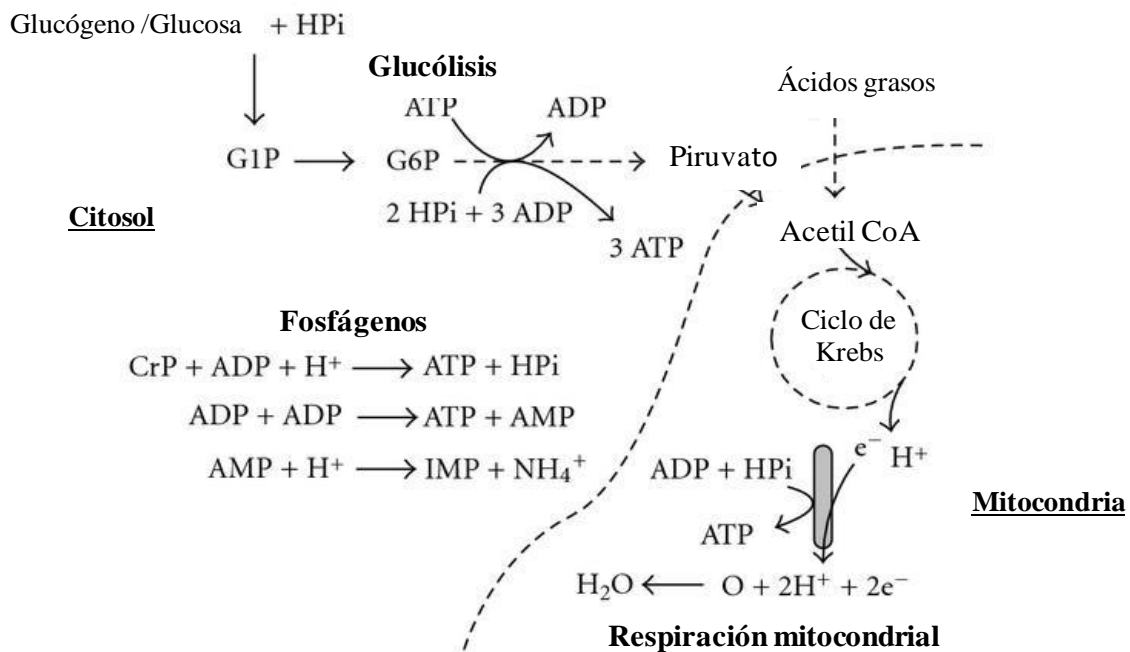


Imagen 5. Interacción de los sistemas energéticos durante la regeneración de ATP en la célula muscular (Baker *et al.*, 2010).

3. La natación

La natación es una actividad que consiste en sostenerse y avanzar usando los brazos y las piernas, sobre o bajo el agua. Puede realizarse como actividad lúdica o como deporte de competencia. Existen cuatro estilos distintos de nado, libre o crol, mariposa, pecho y dorso (UNAM deportes, 2016).

Es un deporte que se desarrolla mediante un metabolismo aeróbico, así como anaeróbico en sus variantes de natación simple, waterpolo, buceo y nado sincronizado (Kabasakalis *et al.*, 2014). Ya que se emplean ambos metabolismos, el consumo energético comienza por el sistema de fosfocreatina, seguido por un metabolismo anaeróbico de la glucólisis y por último el metabolismo aeróbico (Pyne *et al.*, 2014).

Los nadadores profesionales entrenan diariamente entre cuatro y cinco horas, tiempo en el que realizan ejercicio fuera y dentro del agua para potenciar el desarrollo neuromuscular, la resistencia muscular, estabilidad del cuerpo, flexibilidad, y equilibrio emocional. El entrenamiento constante y una dieta adecuada, son la clave para promover el desarrollo de un atleta (Pyne *et al.*, 2014).

A nivel mundial la natación y su competición está regulada por la Federación Internacional de la Natación (FINA); en México, el organismo responsable de este deporte es la Federación Mexicana de Natación (FMN), cuyo objetivo es “garantizar el adecuado desarrollo y el orden de las especialidades acuáticas a nivel nacional” (FMN, 2016).

4. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre los antioxidantes y los oxidantes del organismo a favor de los oxidantes, que normalmente son radicales libres, especies reactivas del oxígeno (EROs) y/o especies reactivas del nitrógeno (ERNs) (Djordjevic *et al.*, 2012).

4.1. Radicales libres y especies reactivas del oxígeno

Un radical libre se define como un átomo, o grupo de átomos, que puede existir independiente y contiene un electrón desapareado dentro de su estructura, lo que le confiere una gran inestabilidad (Fernández *et al.*, 2009).

En los organismos de metabolismo aeróbico las especies reactivas de mayor importancia son aquellas que se forman durante el metabolismo del oxígeno (EROs), los cuales incluyen iones del oxígeno, radicales libres y peróxidos, como se presenta en la tabla 2.

Tabla 2. Especies reactivas provenientes del oxígeno

Especie reactiva	Abreviatura
oxígeno singulete	$^1\text{O}_2$
ión superóxido	$\text{O}_2^{\bullet-}$
radical hidroxilo	HO^{\bullet}
radicales alcoxi y peroxi	RO^{\bullet} y ROO^{\bullet}
radical peroxilo	ROOH^{\bullet}
peróxido de hidrógeno	H_2O_2

(Fernández *et al.*, 2009)

Existen dos formas de generación de EROs: 1) La forma regulada, que ocurre normalmente durante la respiración, proceso bioquímico en el cual el oxígeno que entra al organismo pasa por una serie de vías metabólicas (ciclo de Krebs, cadena de transporte de electrones), mismas que generan como productos principales el CO_2 , H_2O y ATP, y como subproductos generan EROs (Galván *et al.*, 2008); y 2) la formación no regulada, que depende de factores ambientales, el ejercicio, la dieta, el medio ambiente, los hábitos, enfermedades etc. (Fernández *et al.*, 2009).

En condiciones normales siempre hay una carga pequeña de radicales libres en las células del organismo, generando un ambiente oxidativo, que es una condición esencial para que los fagocitos (macrófagos y neutrófilos) puedan desarrollar su función. Cuando un fagocito actúa sobre una bacteria, su consumo de oxígeno aumenta; el incremento en el consumo de oxígeno recibe el nombre de estallido

oxidativo, por lo que se producen EROs con efectos antimicrobianos (Fernández *et al.*, 2009).

4.1.1. Formación de especies reactivas del oxígeno y el ejercicio

Realizar ejercicio moderado (<75% VO_{2max}¹), genera radicales libres, esto estimula al sistema antioxidante del organismo (Córdova *et al.*, 2015), sin embargo se ha demostrado que al realizar ejercicio de manera intensa (>80% VO_{2max}), puede propiciar la generación de radicales libres en mayor concentración en el organismo, lo que conlleva a un estrés oxidativo, ocasionando daño celular, fatiga y pérdida de fuerza muscular. Esto también depende de la duración, el tipo de ejercicio, la edad, el sexo, la alimentación y el ambiente en el que se realiza el ejercicio (Fernández *et al.*, 2009).

Cuando se lleva a cabo ejercicio aeróbico, hay un consumo constante de oxígeno, y por lo tanto aumenta la concentración de EROs en la células, debido a que el oxígeno actúa como aceptor de electrones al final de la cadena de transporte de electrones, dando como productos finales moléculas de agua, radicales libres y peróxidos, como: O₂⁻, OH^{*} y H₂O₂ (ver imagen 6). Como resultado se estimula el aumento de antioxidantes intracelulares y la capacidad enzimática antioxidante (Fernández *et al.*, 2009).

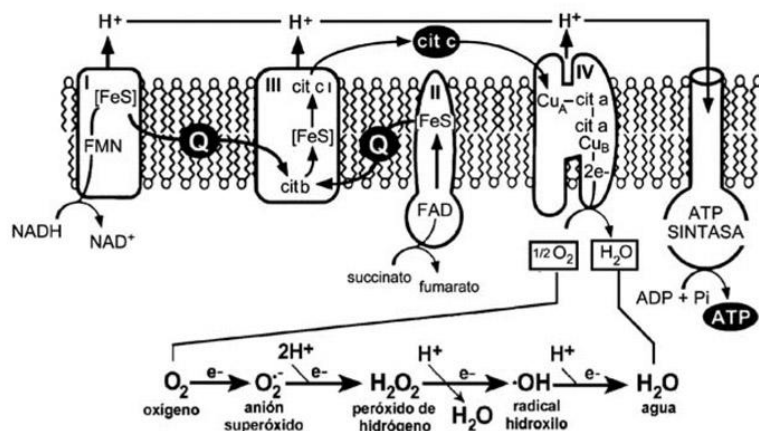


Imagen 6. Esquema de la cadena de transporte de electrones (Cascales, 2008).

¹ VO_{2max}: cantidad máxima de O₂ que el organismo puede transportar en un minuto (Myers *et al.*, 2017)

En el caso del ejercicio anaeróbico, la redistribución del flujo sanguíneo hacia el músculo en contracción y hacia los tejidos prioritarios como el corazón y el cerebro, ocasiona que otros órganos sean sometidos a periodos de hipoxia (disminución de O₂ en la sangre, células y tejidos del organismo). Al finalizar la contracción muscular los tejidos hipóxicos vuelven a recibir el flujo sanguíneo de forma brusca, por consiguiente, reciben una gran cantidad de oxígeno, lo que causa una mayor generación de EROs (Galván *et al.*, 2008).

Durante la contracción muscular, la producción intracelular de las EROs, aumenta de dos a cuatro veces más de lo normal. La generación de EROs ocurre en las células del músculo esquelético, en las células endoteliales y los eritrocitos, estas células tienen una membrana permeable, por lo tanto, se puede efectuar una difusión de las EROs que se encuentran en el plasma hacia el interior de las células y viceversa (Galván *et al.*, 2008).

4.2. Lipoperoxidación y marcadores del daño oxidante

La peroxidación lipídica es un proceso degenerativo que ocurre en condiciones de estrés oxidativo, dañando las membranas celulares, lipoproteínas y otras estructuras que contienen fosfolípidos insaturados, glucolípidos y colesterol. El resultado es un incremento en la formación de productos primarios (dienos conjugados e hidroperóxidos) y secundarios (aldehídos, malonaldehído, etanos, y hexanos, entre otros.) (Fernández *et al.*, 2009). En la imagen 7 se presentan las etapas en las que se clasifica la oxidación lipídica, cómo es que se lleva a cabo y como es que se forman los productos mencionados con anterioridad.

El estrés oxidativo puede ser evaluado a través de la determinación de la peroxidación lipídica y de la actividad del sistema antioxidante. La primera implica la valoración plasmática de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), la medición de alcanos exhalados (etano, propano y metano) y la oxidación del plasma (oxidación de lipoproteínas de baja densidad). La segunda está relacionada con la determinación de las enzimas y moléculas antioxidantes en el plasma (Souki *et al.*, 2007).

El ejercicio puede inducir una producción exacerbada de $O_2^{\bullet-}$, conduciendo también a un incremento subsiguiente de H_2O_2 y HO^{\bullet} , especies que inician el proceso de peroxidación lipídica (Fernández *et al.*, 2009).

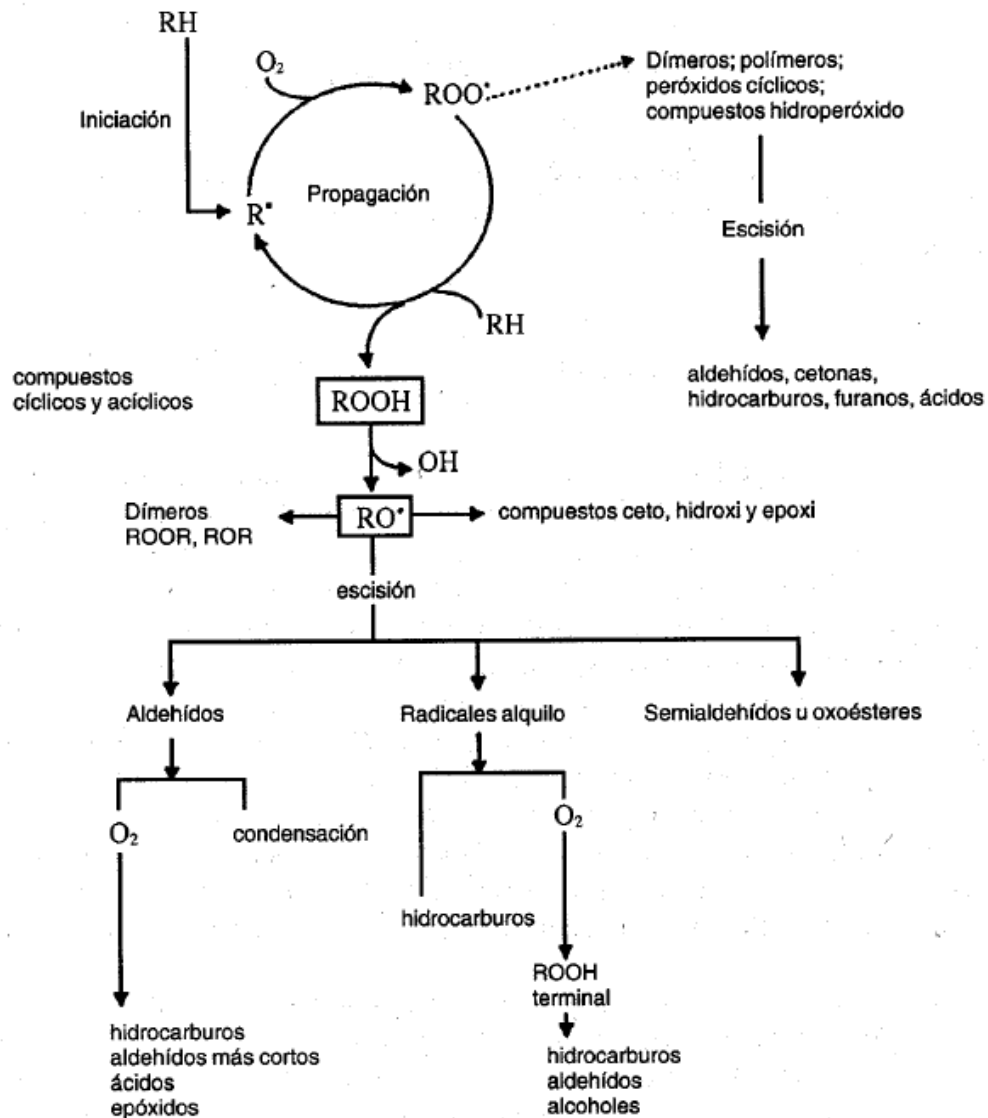


Imagen 7. Diagrama de la oxidación lipídica (Wasser, 1996).

5. Sistema antioxidante

Un antioxidante es un átomo, molécula, o compuesto que captura, suprime, transforma o bloquea a las especies reactivas, evitando o minimizando el daño oxidativo que pueden llegar a ocasionar, ya sea al interactuar directamente con el oxidante, o al interferir en la cadena de reacciones que conducen al daño de sustratos tales como lípidos, proteínas, hidratos de carbono o el ADN (ácido desoxirribonucleico) (Fernández *et al.*, 2009).

El sistema de defensa antioxidante de las células, constituye un mecanismo adaptativo de gran relevancia y puede ser clasificado en dos grupos, el de antioxidantes endógenos que consta de las enzimas: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), entre otras; y el de compuestos no enzimáticos o exógenos como glutatión (GSH) y la vitamina E y C (Souki *et al.*, 2007).

En la imagen 8 se observa como los antioxidantes celulares (enzimáticos y no enzimáticos) actúan.

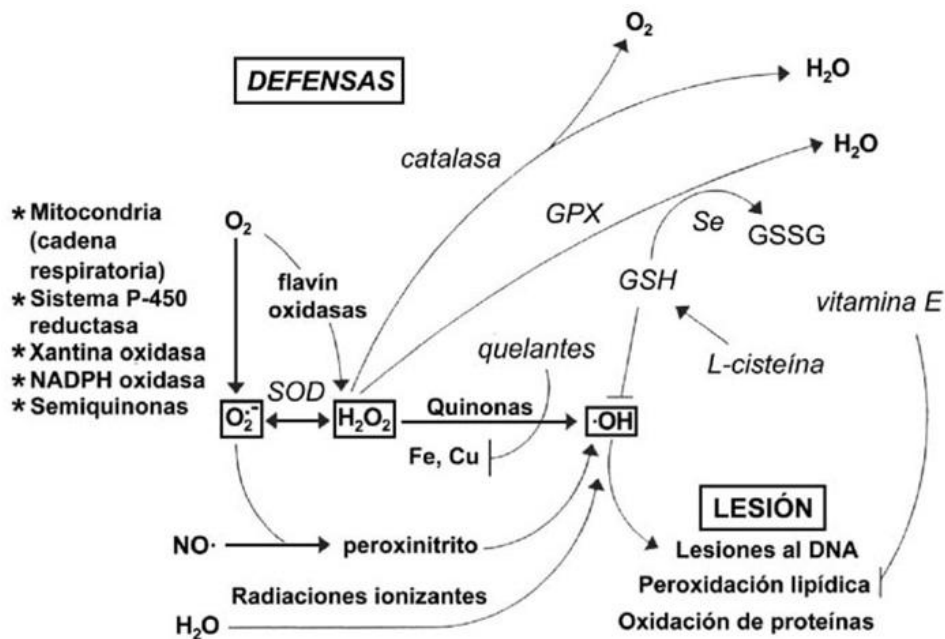


Imagen 8. Mecanismo de acción del sistema antioxidante (Cascales, 2008).

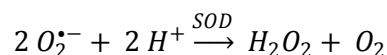
5.1. Antioxidantes enzimáticos

Las enzimas antioxidantes incluyen a la SOD, CAT y GPx.

5.1.1. Superóxido dismutasa

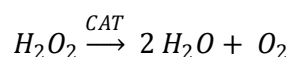
Pertenece a una familia de enzimas que tiene como cofactores átomos de hierro, zinc, cobre o manganeso, dependiendo del origen celular. La primera SOD (SOD1 o Cu/Zn-SOD) tiene como cofactor al cobre y zinc, y se encuentra en el citoplasma, el núcleo y la membrana externa mitocondrial. El segundo tipo de SOD (SOD2 o MnSOD), tiene como cofactor un átomo de manganeso y se encuentra en la membrana interna mitocondrial; y por último la tercera SOD tiene asociado un átomo de cobre y uno de zinc (SOD3), se encuentra fuera de la célula en la matriz extracelular (Konigsberg, 2008).

Esta familia de enzimas se encarga de catalizar la dismutación del ión superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno (Galván *et al.*, 2008).



5.1.2. Catalasa

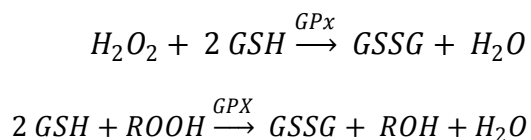
Es una enzima antioxidante que se encuentra en mayor concentración en los peroxisomas. Su función es muy importante ya que utiliza el H₂O₂ como sustrato, transformándolo en H₂O y O₂ de manera muy rápida (Koolman, 2005).



5.1.3. Glutación peroxidasa

La GPx es una enzima localizada a nivel del citosol, la mitocondria y la membrana celular. Cataliza la reacción de la reducción del H₂O₂ en H₂O y de hidroperóxidos (ROOH) en H₂O y alcohol (ROH). En su reacción antioxidante utiliza GSH y lo transforma en glutatión disulfuro (GSSG). Para que este ciclo se complete es necesaria la presencia de la glutatión reductasa (GR) responsable de convertir el GSSG nuevamente en GSH. La actividad de estas enzimas está regulada por el

selenio y la riboflavina, mismos que actúan como cofactores (Fernández *et al.*, 2009). Ver imagen 9.



La diferencia entre la GPx y CAT, radica, principalmente, en que la CAT tiene como sustrato al H₂O₂, mientras que la GPx, además del H₂O₂, utiliza al GSH. Además la GPx tiene una mayor afinidad por el H₂O₂ cuando éste se encuentra en concentraciones bajas, en tanto que la CAT presenta una mayor afinidad cuando se encuentra en concentraciones elevadas (Fernández *et al.*, 2009).

5.2. Antioxidantes no enzimáticos

Existe una gran variedad de compuestos antioxidantes los cuales no son enzimáticos, que pueden actuar a nivel intracelular, extracelular o ambos, como la lactoferrina, albumina, glutatión, tocoferoles, metionina, selenio, entre otros (Müller, 2008).

El GSH es un tripéptido constituido por los aminoácidos: cisteína, glutamato y glicina. Es sintetizado en el citoplasma celular. Destaca su función como antioxidante, es parte importante de la detoxificación de xenobióticos; y también actúa en el transporte de cisteína (ciclo γ -glutamil) (Martínez *et al.*, 2011).

Su concentración celular es dependiente de la actividad metabólica del tejido, y su importancia radica en que actúa de tres formas: a) reaccionando directamente con diferentes radicales libres como un dador de electrones; b) sirviendo como sustrato para la GPx en su reacción antioxidante y c) reduciendo las formas oxidadas (Fernández *et al.*, 2009).

Durante la detoxificación de las EROs, el GSH está involucrado en dos tipos de reacciones. La primera es la interacción no enzimática con radicales como el $O_2^{\cdot-}$, óxido nítrico (NO) y HO^{\cdot} . La segunda forma es proporcionando un electrón para la reducción de ROOH en la reacción catalizada por la GPx. El producto final de la

oxidación de GSH es GSSG, constituido por dos moléculas de GSH unidas por un puente. El GSH es regenerado por la GR, enzima que transfiere electrones del NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato) al GSSG, reduciendo esta molécula. Durante las reacciones catalizadas por la GPx y la GR el glutatión no es consumido, pero es reciclado y así puede ser utilizado de nuevo cuando se requiera, como se presenta en la imagen 9 (Martínez *et al.*, 2011).

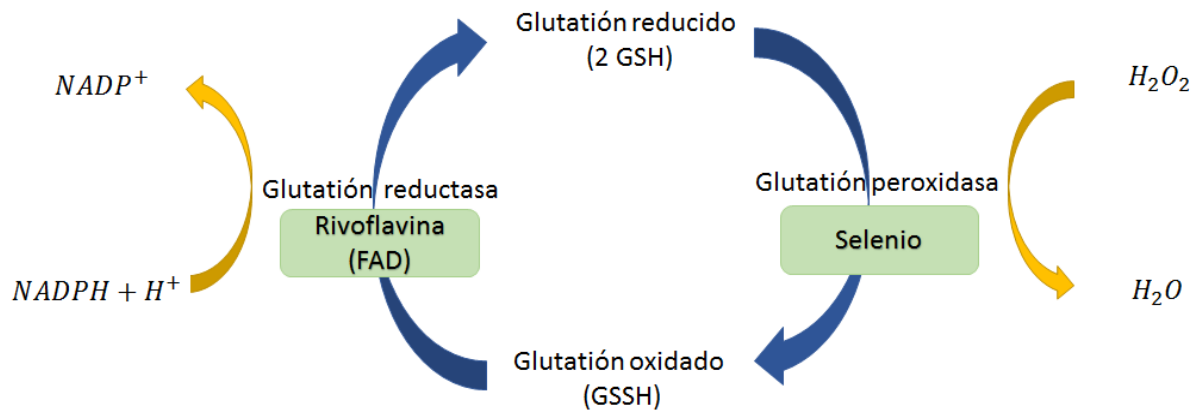


Imagen 9. Mecanismo de acción del glutatión y la glutatión peroxidasa en la célula.

Otros antioxidantes no enzimáticos son el α - tocoferol (vitamina E) y el ácido L-ascórbico (vitamina C). El α - tocoferol, es el principal antioxidante liposoluble que protege a la célula de los radicales libres; su función principal es atacar a las EROs, y proteger a los ácidos grasos insaturados de la oxidación lipídica. El ácido L-ascórbico es un potente antioxidante hidrosoluble, actúa como secuestrador de EROs y ERNs, y tiene la capacidad de regenerar antioxidantes de bajo peso molecular como el α - tocoferol, el GSH y el β -caroteno (Konigsberg, 2008).

6. Nutrición

Llevar una dieta en la cual se incluya una ingesta variada de frutas y vegetales, protege al organismo del estrés oxidativo debido a su elevado aporte de nutrientes con funciones antioxidantes. Al contrario, una dieta con escasa variedad y cantidad de frutas y vegetales, que en lugar de esto aporte un exceso de calorías, sal y grasas saturadas, incrementa el riesgo de favorecer la formación de radicales libres en el cuerpo (Fernández *et al.*, 2009).

Una buena alimentación incide directamente en la salud de cualquier persona, sin embargo, para un atleta se torna determinante, ya que de cómo y de qué se alimente dependerá su rendimiento (Popp *et al.*, 2011).

Llevar una buena alimentación no es suficiente para cumplir con las exigencias energéticas de un atleta, por lo que es necesario recurrir a la ingesta de suplementos o complementos, según sea el caso, que le ayuden a mejorar su alimentación. Los suplementos y complementos deben cumplir con los criterios establecidos por las organizaciones deportivas que norman y/o regulan el consumo de sustancias permitidas (Braakahuis *et al.*, 2015).

El objetivo de los suplementos alimenticios, también llamados suplementos dietéticos o nutricionales, es aportar los nutrientes que pueden no ser consumidos en cantidades suficientes. En tanto los complementos alimenticios son compuestos que ayudan a establecer niveles de deficiencia de algunos nutrientes, cuyo aporte es insuficiente en la dieta (FDA, 2017; NOM-251- SSA1- 2009).

En los últimos años se ha descubierto que algunas sustancias además de sus propiedades nutricionales, tienen la capacidad de mejorar o mantener la salud del organismo, y son conocidos como compuestos nutraceuticos (Chahuan *et al.*, 2013).

6.1. Compuesto nutracéutico

El término *nutracéutico* proviene de “nutrición” y “farmacéutico”, y fue creado en 1989 por el Dr. Stephen Defelice, presidente de la Fundación para la Innovación en Medicina (Foundation for Innovation in Medicine, FIM), en Cranfor, Nueva Jersey, Estados Unidos (Chahuan *et al.*, 2013).

Un nutracéutico es un compuesto o nutriente que provee beneficios a la salud, ya sea previniendo o ayudando en el tratamiento de algún padecimiento, así como para mantener un estado óptimo de salud. Forma parte de la matriz alimentaria y actúan como agentes activos, tal como: una vitamina, mineral, algún compuesto botánico, aminoácidos, ácidos grasos, etc. (Chauhan *et al.* 2013). Ver tabla 3.

Los nutracéuticos pueden ser aislados de los alimentos que los contienen y se comercializan en forma de polvo, de tableta, de cápsulas, o en forma líquida para obtener sus beneficios (Valenzuela *et al.*, 2014)

Tabla 3. Ejemplos de nutraceuticos, donde se encuentran y su función tienen en el organismo

Nutraceutico	Fuente	Función
Vitamina A (retinol)	Zanahoria, mango, camote amarillo, calabaza naranja, hígado, cianobacterias	Acción antioxidante, prevención de cáncer y afectaciones visuales
Vitamina E (α tocoferol)	Alimentos de hoja verde, yema de huevo y semillas oleaginosas	Acción antioxidante, prevención del Parkinson, prevención de accidentes cardiovasculares
Quercetina	Cebolla morada, manzana y alcaparras	Acción antioxidante, acción antihistamínica, prevención de accidentes cerebrovasculares
Resveratrol	Uvas, arándanos, frambuesas, moras	Acción antioxidante, prevención de cáncer, prevención de accidentes cardiovasculares
Polifenoles	Uva, vino tinto, jamaica, arándano, cerezas, chabacano, espinaca, manzana, ajo, maíz azul, té verde	Acción antioxidante, acción vasodilatador, prevención de cáncer , disminuye el colesterol
Licopeno	Jitomate, toronja, sandia	Prevención de cáncer de próstata y pulmón, prevención de enfermedades visuales
Omega 3	Linaza, aceite de pescado, cianobacterias chía	Prevención de accidentes cardiovasculares
Ácido decosaheptaenoico (DHA)	Pescados de agua fría, algas, cianobacterias	Esencial en el funcionamiento cerebral, previene Alzheimer, previene accidentes cardiovasculares
Isoflavonas	Soya y leguminosas	Prevención de cáncer de mama, osteoporosis y tratamiento para el síndrome postmenopáusico

(Chauhan et al., 2013)

6.1.1. Regulación de los nutracéuticos

En la actualidad los nutracéuticos constituyen un segmento importante en la industria de los alimentos, ya que su consumo ha aumentado considerablemente en los últimos años. Sin embargo, su origen natural proveniente de algún alimento hace un poco difícil su regulación, si bien no son considerados medicamentos, son compuestos a los cuales se les deben realizar pruebas toxicológicas y evaluar sus efectos en el organismo humano (Rodríguez *et al.*, 2012).

La FDA (Food and Drug Administration) es la institución encargada de regular en Estados Unidos el uso y consumo de este tipo de compuestos. A través de la *Ley de Educación y Salud de los Suplementos dietéticos (Dietary Supplement Health and Education Act from 1994 "DSHEA")*, establece que es responsabilidad del fabricante asegurarse de la inocuidad del nutracéutico antes de su comercialización, así como de que la información en la etiqueta del producto no sea engañosa. Sin embargo los fabricantes no están obligados a registrar sus productos ante la FDA, pero esta instancia normativa, si está autorizada a tomar medidas sobre los productos nutracéuticos en cualquier momento (FDA, 2016).

En la Unión Europea la institución encargada de regular los nutracéuticos es la Autoridad Europea de la Seguridad Alimentaria (*European Food and Safety Authority "EFSA"*) a través de la *Ley directiva 2002/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo del 10 de junio de 2002*, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de complementos alimenticios. En la cual se establece que toda sustancia que promueva la buena salud del individuo, debe estar probada con anterioridad y asegurar su inocuidad (EUR- Lex, 2002; EFSA, 2017,).

7. *Spirulina maxima*

La *Spirulina maxima* (*Arthrospira*) es una cianobacteria, perteneciente a la familia Oscillatoriaceae. Se sabe que en la época prehispánica, los aztecas la consumían como parte de su dieta básica y que provenía del Lago de Texcoco. En la actualidad se ha identificado a la *Spirulina maxima* como un excelente suplemento y complemento alimenticio por su alto contenido proteínico (60-70% p/p). Contiene todos los aminoácidos esenciales, ficobiliproteínas, las cuales son las principales en otorgarle su carácter de nutraceutico; además, es rica en omega 3 y 6, aporta ácidos grasos esenciales, siendo el principal el γ -linoleico; vitaminas como el β -caroteno, y compuestos inorgánicos (Wu *et al.*, 2016).

En las tablas 4 y 5 se presentan respectivamente el análisis proximal de la *Spirulina maxima* y algunos de los principales compuestos que posee así como los efectos que tienen sobre el organismo humano.

Tabla 4. Análisis proximal de la *Spirulina maxima*

Componente	Contenido (%)
Proteína	63.3 -71.0
Lípidos	4.3
Hidratos de carbono	17.8
Cenizas	6.0-7.0
Fibra cruda	0.5-1.2
Humedad	4.0-8.3

(Gutiérrez *et al.*, 2015)

Tabla 5. Compuestos que contiene la *Spirulina* y los efectos que tienen sobre la salud

Compuesto	Función
Ficocianina	Antioxidante, anticancerígeno, antiinflamatorio
β -caroteno	Antioxidante, anticancerígeno, inmunomodulatorio, antiinflamatorio
Polisacáridos sulfatados	Antioxidante, anticoagulante, anticancerígeno, antiinflamatorio, inmunomodulatorio, antiviral, antihiperlipidémico, antihepatotóxico
Ácido γ -linoléico	Antibacterial, antioxidante, antiinflamatorio, anticancerígeno, antifibrótico, antiangiogénico
Sulfolípidos	Antiviral, anticancerígeno, antiinflamatorio

(Wu et al., 2016)

Por su perfil nutricional, la *Spirulina (maxima o platensis)* es de gran interés para la investigación científica. Existen diversos estudios en los cuales se ha determinado que su consumo puede tener efectos beneficios, tanto en humanos como en animales; algunos de estos efectos son: antioxidante, antiinflamatorio, inmunomodulatorio, hipolipemiante, anticarcinogénico, antiviral, antibacterial, antiparasitario, hepatoprotector., Además puede generar efectos positivos contra: la hiperlipidemia, malnutrición, diabetes, e intoxicación por metales pesados (Chamorro et al., 2015; Wu et al., 2016).

La *Spirulina maxima* tiene tres tipos de ficobiliproteínas: aloficocianina, C-ficocianina (17.2%) y ficoeritrina. Estas proteínas presentan color debido a los grupos prostéticos que tienen, los cuales constan de una cadena abierta de tetrapirroles cromóforos. En general estos compuestos presentan un efecto antioxidante, disminuyendo la intensidad del estrés oxidativo y manteniendo el equilibrio REDOX de las células del cuerpo (Glazer, 1985).

En la imagen 10 se presenta la estructura de la ficocianina, es una biliproteína que se extrae de las algas verdeazules como la *Spirulina maxima*. Esta proteína porta tres grupos cromogénicos por unidad monomérica, los cuales poseen una estructura muy similar a la de la bilirrubina, que es un reconocido antioxidante endógeno. Por otra parte, se conoce que derivados de las porfirinas, como la clorofila alfa, presentan propiedades antioxidantes. Recientemente se ha

reportado que la ficocianina tiene propiedades antioxidantes, pues es capaz de secuestrar radicales hidroxilo y alcoxilo (Romay *et al.*, 2001).

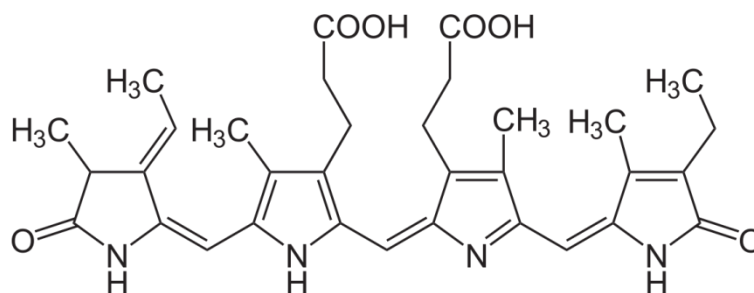


Imagen 10. Estructura de la ficocianina (Universidad Complutense).

Debido a los atributos nutricionales antes descritos, se supone que el consumo recurrente de la *Spirulina maxima*, puede incidir positivamente en el rendimiento de los deportistas que la consuman como complemento alimenticio (Ramírez *et al.*, 2006; Torres *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2016).

A la fecha no hay evidencia registrada de efectos tóxicos, y su origen natural la hace aún más atractiva. Se han registrado estudios en los que se consumieron dosis de hasta 10 g/d de *Spirulina maxima* o *platensis* y no se presentaron efectos adversos; además en algunas regiones de África las tribus nativas llegan a consumir 40 g/d de *Spirulina platensis* sin presentar efectos adversos (Chamorro *et al.*, 2015).

En 2012 la FDA declaró por medio de la división de biotecnología y revisión GRAS, que la *Spirulina maxima* es considerada un alimento GRAS por sus siglas en inglés (Generally Recognized as Safe), que en español quiere decir “Generalmente Reconocidos como Seguros”. Para que una sustancia sea GRAS, los datos científicos y la información sobre el uso, debe ser ampliamente conocido y tiene que haber un consenso entre los expertos de que esos datos e información establecen que la sustancia es segura en las condiciones de su uso previsto (FDA, 2014).

III. Hipótesis

La *Spirulina maxima* mejorará el estado antioxidante de nadadores entrenados.

IV. Objetivos

1. Objetivo general

Determinar el efecto de la *Spirulina maxima* sobre el estado antioxidante del plasma sanguíneo de nadadores entrenados.

2. Objetivos particulares

- 2.1. Determinar la actividad de enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx en plasma.
- 2.2. Determinar la concentración de GSH en plasma.
- 2.3. Determinar la concentración de los productos finales de oxidación de lípidos (TBARS) en plasma.

v. Diseño del experimento

El proyecto es un estudio aleatorizado ciego simple. Se seleccionó una muestra de hombres, pertenecientes al *Equipo Representativo de Natación de la UNAM, Alberca Olímpica 1968, C.U.*

Los criterios de inclusión fueron los siguientes:

- 1) Ser sujetos sanos.
- 2) No fumar.
- 3) No consumir drogas.
- 4) No consumir suplementos alimenticios.
- 5) No realizar otras actividades deportivas.
- 6) No presentar efectos adversos a la *Spirulina maxima*.

La muestra de estudio consideró a 14 nadadores, entre el rango de edad de los 10 a los 28 años; esta muestra se clasificó en dos grupos. El grupo A, conformado por siete participantes que consumieron *Spirulina maxima*² en tabletas de 500 mg, y el grupo B, integrado por los otros siete nadadores, que consumieron un placebo (glucosa/ celulosa 2:1, p/p). Para diferenciar ambos grupos se asignaron claves diseñadas a partir de las iniciales del nombre de cada participante, la letra N de la palabra nadador, la letra del grupo correspondiente, A o B, y el número designado de participante.

Ejemplo: Diego Alfredo Gómez Espinoza →GOEDNA1.

Previo al tratamiento se obtuvieron muestras de sangre de cada participante. Las muestras se tomaron en las instalaciones de Medicina del Deporte de la UNAM, se recolectaron en tubos vacutainer con heparina, que actúa como anticoagulante,

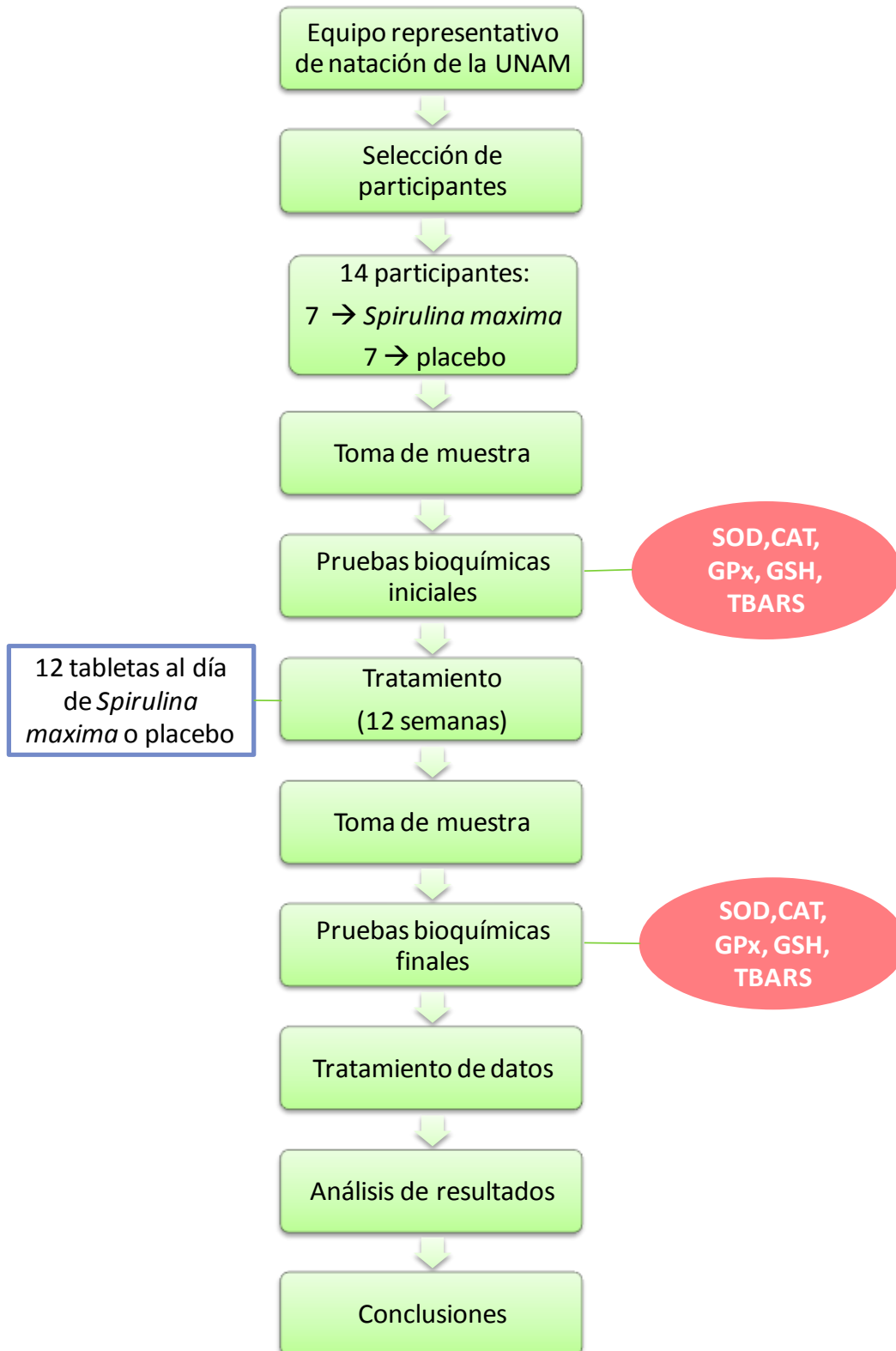
²*Spirulina maxima* marca Alimentos Esenciales para la Humanidad (AEH)

con el fin de obtener el plasma necesario para las determinaciones enzimáticas (SOD, CAT y GPx), GSH y productos finales de oxidación (TBARS), estas pruebas se llevaron a cabo en el laboratorio 10, del Departamento de Bioquímica, de la Facultad de Medicina.

El período de tratamiento duró 12 semanas, los participantes consumieron 12 tabletas al día (cuatro tabletas en el desayuno, cuatro en la comida y cuatro en la cena), lo que corresponde a una dosis de 6 g/día; siendo de placebo o de *Spirulina maxima* pura.

Una vez que concluyó la etapa de tratamiento, se tomó otra muestra de sangre de la misma manera en que se hizo al inicio y se volvieron a realizar las mismas determinaciones bioquímicas, con el fin de comparar ambas muestras y establecer si el estado antioxidante de los participantes presentó algún cambio después del tratamiento.

Diagrama del diseño de experimento



VI. Metodología

1. Técnicas Bioquímicas

1.1. Enzimas

1.1.1. *Superóxido dismutasa*

Se determinó por el método modificado de Kono, el cual se fundamenta en la inhibición de la reducción del cloruro de nitroazul de tetrazolio (NBT) durante el proceso de autooxidación de la hidroxilamina en un medio alcalino. La reducción del NBT será inhibida por la SOD. La actividad enzimática se determina a 560 nm. (Kono *et al.*, 1977).

1.1.2. *Catalasa*

Se determinó por el método modificado en plasma, de Aebi. Esta técnica se fundamenta en la desaparición del H_2O_2 al reaccionar con la CAT en medio fisiológico; a una longitud de onda de 240 nm (Aebi *et al.*, 1984).

1.1.3. *Glutación peroxidasa*

Se determinó la actividad de esta enzima con base en el método de Wendel, que mide la desaparición del NADPH a 340 nm. Esta técnica se fundamenta en el ciclo de producción de GSH y la relación entre el consumo de NADPH y el aumento en la actividad de la GPx (Wendel, 1984).

1.2. Compuestos no enzimáticos

1.2.1. *Glutación (GSH)*

Se determinó por el método de Ellman, por medio de una curva estándar de glutación a 412 nm, donde se determina el glutación derivatizado con ácido [5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico)] (DTNB) (Ellman *et al.*, 1959).

1.2.2. *Productos finales de oxidación TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico)*

Se determinó por el método reportado por Puntel. Este método se fundamenta en la reacción entre los aldehídos generados a partir de la lipoperoxidación (el malonaldehído (MDA) es el más representativo) que se encuentran en la muestra y el ácido tiobarbitúrico (TBA); al reaccionar estos dos compuestos se genera un aducto MDA- TBA. La concentración de MDA en plasma se determina a 532 nm (Puntel *et al.*, 2007).

La descripción del procedimiento seguido en cada técnica se encuentra en el Anexo 1.

2. Tratamiento de datos

Los datos se procesaron de diferente forma dado que este estudio fue piloto aleatorio, ciego simple, como:

- 2.1. Datos crudos de los cuatro grupos diferentes (placebo inicial, placebo final, Spirulina inicial, Spirulina final).
- 2.2. Δ (incremento o decremento) entre los resultados antes y después del tratamiento.
- 2.3. El porcentaje al que corresponde el Δ .

3. Estadística

Se realizaron las pruebas de normalidad de Courtosis y Kolmogorov Smirnof. Dado que los resultados son referentes a un estudio piloto, los resultados están expresados como media \pm ES (error estándar), se utilizaron pruebas estadísticas para resultados no paramétricos (t-Student no paramétrico y Kruskal Wallis) con una $p < 0.05$.

Para el análisis estadístico y los gráficos se utilizó el paquete estadístico GraphPad PRISM 5.

VII. Resultados

Los resultados obtenidos de las pruebas bioquímicas se presentan a continuación:

1. Enzimas

1.1. Superóxido dismutasa

Se encontró una diferencia significativa en los tres tipos de tratamiento de datos (datos crudos, Δ y % de Δ) de la SOD (ver imagen 11). Para datos crudos se realizó la prueba de Kruskal-Wallis, los resultados estadísticos arrojan una diferencia significativa entre placebo inicial y placebo final y, entre *Spirulina* inicial y *Spirulina* final. Los otros dos tratamientos de datos se evaluaron por una t de Student no paramétrica. Tanto en el Δ , como en el % de Δ se observó un decremento de la actividad, pero, la diferencia fue mayor en el grupo que consumió placebo.

1.2. Catalasa

En la imagen 12 se observan los resultados de la determinación de CAT, donde únicamente se encontró diferencia significativa en el primer tratamiento de datos **gráfico a)**, analizados por una t de Student no paramétrica entre tratamientos, es decir: placebo inicial contra placebo final y *Spirulina* inicial contra *Spirulina* final; encontrando que sólo hay diferencia entre el placebo inicial y el placebo final. Al igual que la SOD la CAT disminuyó su actividad enzimática en ambos grupos, y nuevamente el grupo placebo presentó una disminución mayor.

1.3. Glutación peroxidasa

La imagen 13 corresponde a los resultados de la GPx, únicamente se encontró diferencia significativa en el tratamiento de datos de porcentaje de Δ entre la *Spirulina maxima* y el placebo, los cuales se analizaron por medio de una t de Student no paramétrica. En este caso, la actividad enzimática de la GPx aumentó en el grupo que consumió la *Spirulina maxima* y disminuyó en el que consumió placebo.

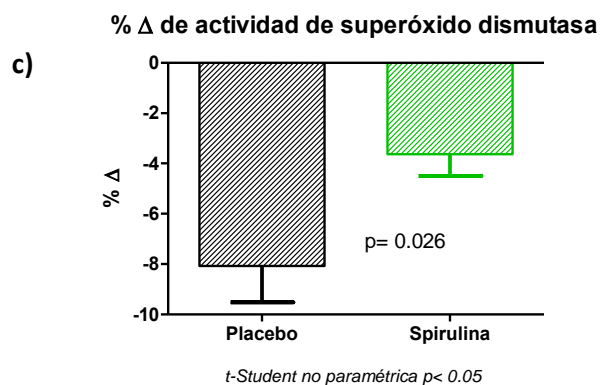
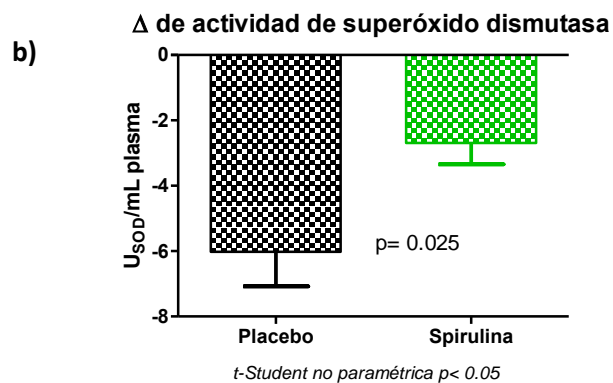
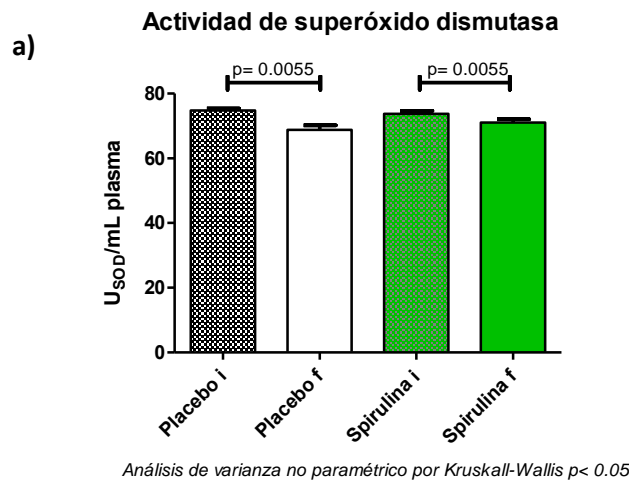


Imagen 11. a) Actividad enzimática de SOD en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo) antes y después del tratamiento. b) Δ de la actividad enzimática de SOD en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). c) % de Δ de la actividad enzimática de SOD en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). Valores reportados como: media ± ES.

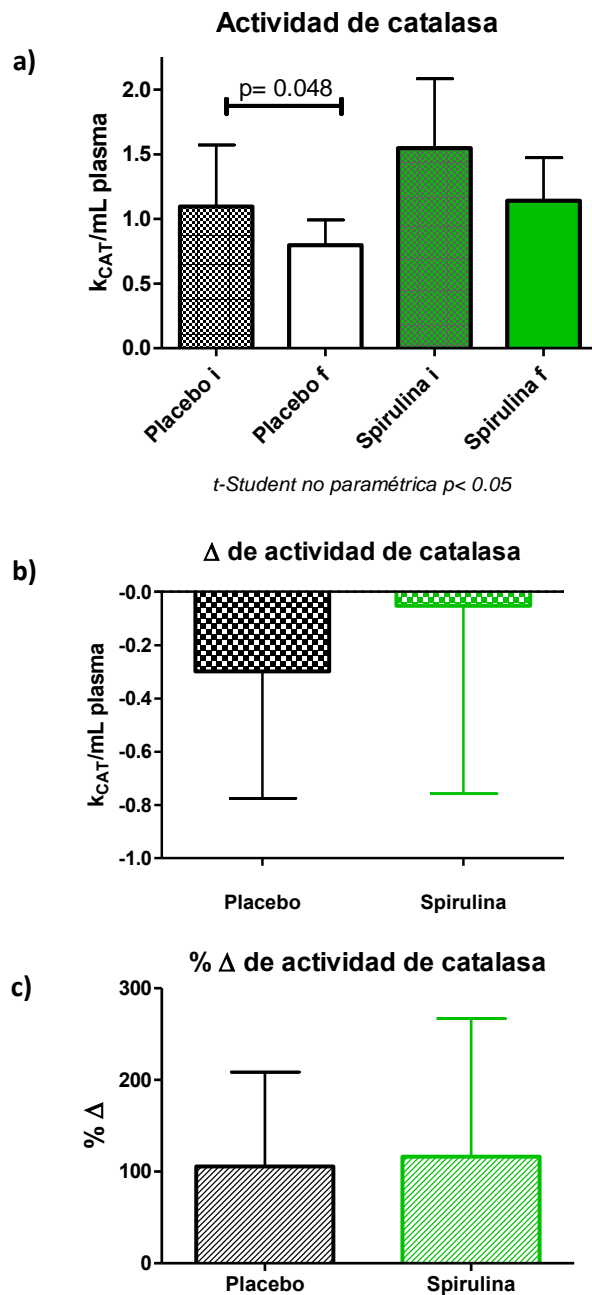


Imagen 12. a) Actividad enzimática de CAT en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo) antes y después del tratamiento. b) Δ de la actividad enzimática de CAT en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). c) % de Δ de la actividad enzimática de CAT en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). Valores reportados como: media \pm ES.

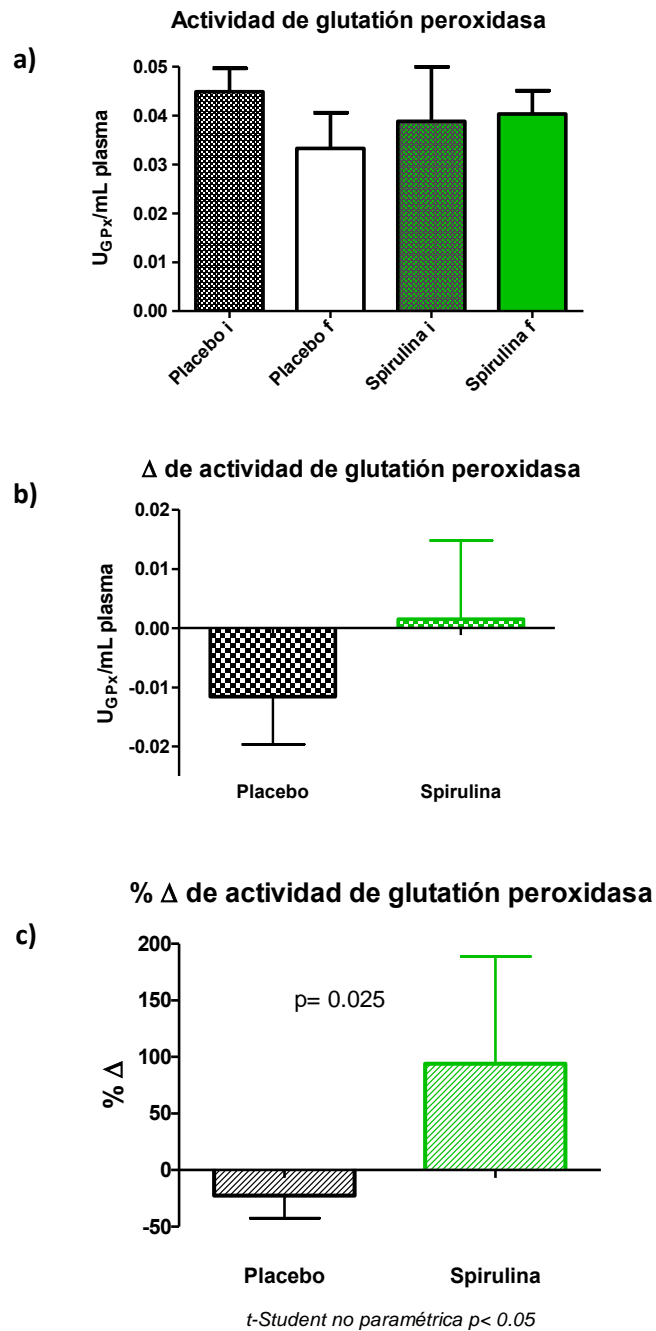


Imagen 13. Actividad enzimática de GPx en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo) antes y después del tratamiento. b) Δ de la actividad enzimática de GPx en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). c) % de Δ de la actividad enzimática de GPx en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). Valores reportados como: media ± ES.

2. Compuestos no enzimáticos

2.1. Glutación

Los resultados de la concentración de GSH en plasma se presentan en la imagen 14, en la cual se observa una diferencia en el primer tratamiento de datos, analizados entre grupos (placebo inicial contra placebo final y *Spirulina* inicial contra *Spirulina* final) por medio de una t de Student no paramétrica. En el **gráfico a)** hay una disminución en la concentración de GSH en el plasma del grupo placebo, mientras que hay un aumento en el grupo que consumió *Spirulina maxima*.

2.2. Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)

En la imagen 15 se presentan los resultados de la concentración de TBARS en plasma. Se encontró una diferencia significativa en los tres tratamientos de datos; cada tratamiento se analizó por una t de Student no paramétrica. Los resultados indican que en ambos grupos hubo un descenso en la concentración de TBARS, sin embargo, esta disminución es mayor en el grupo que consumió *Spirulina maxima*.

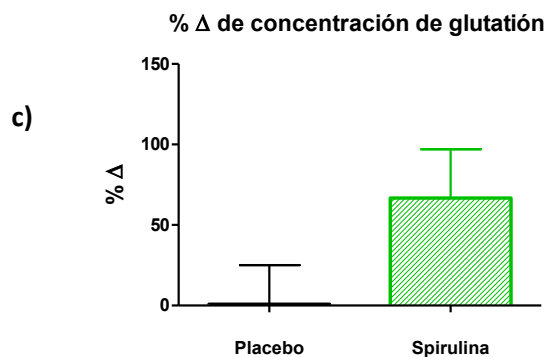
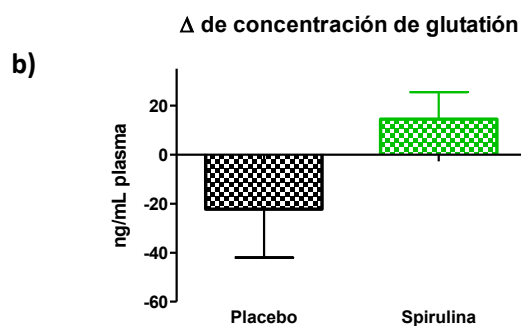
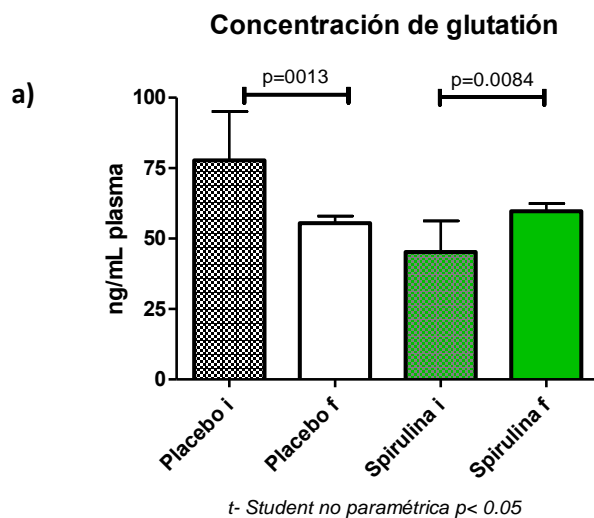


Imagen 14. a) Concentración de GSH en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* contra placebo) antes y después del tratamiento. b) Δ de la concentración de GSH en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). c) % de Δ de la concentración de GSH en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). Valores reportados como: media \pm ES.

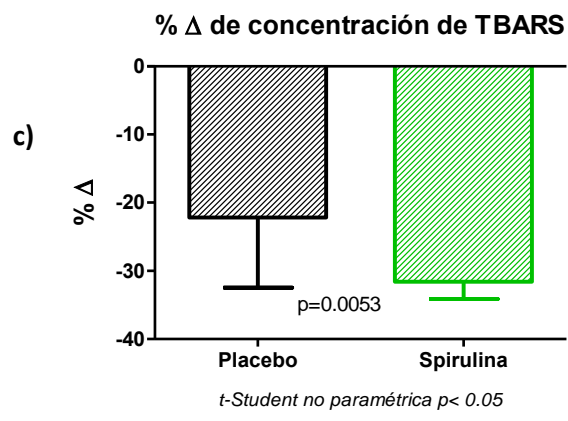
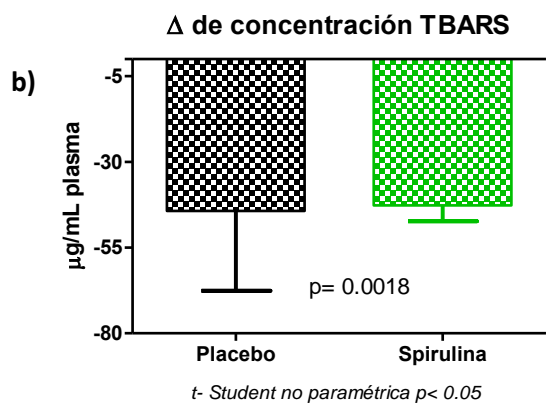
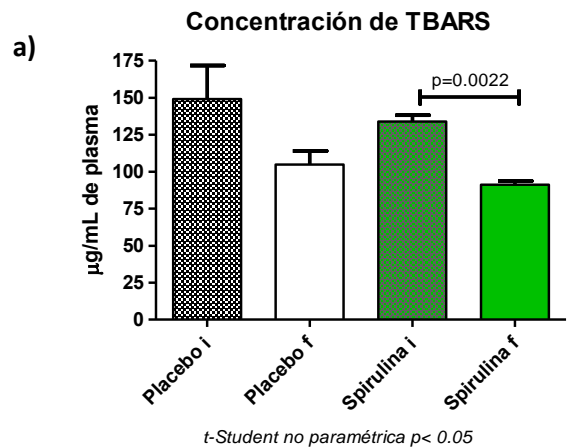


Imagen 15. a) Concentración de TBARS en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo) antes y después del tratamiento. b) Δ de la concentración de TBARS en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). c) % de Δ de la concentración de TBARS en plasma, comparando ambos grupos (*Spirulina maxima* y placebo). Valores reportados como: *media ± ES*.

VIII. **D**iscusión

De manera general, las primeras enzimas en actuar contra el ataque de las EROs son la SOD y la CAT. Se esperaba que la actividad en plasma de estas enzimas aumentara en los participantes que consumieron *Spirulina maxima* ya que de acuerdo a varios autores, se ha encontrado que estas enzimas aumentan de manera significativa al consumir *Spirulina platensis* (Qing *et al.*, 2003; Lu *et al.*, 2006; Abd El-Baky *et al.*, 2009).

Douglas Popp *et al.*, (2011) estudiaron la respuesta antioxidante en plasma de 14 jugadores de handball (sin consumir algún antioxidante), se encontró que la actividad de la SOD en plasma aumentaba, pero la actividad de CAT y GPx disminuía significativamente después de jugar un partido de handball; esto se justificó porque la cantidad de H₂O₂ generado por la actividad de la SOD, fue tan alta que inhibió la actividad de las otras dos enzimas (Popp *et al.*, 2011).

Djordjevic *et al.*, (2012) realizaron un estudio para determinar los efectos del ejercicio sobre el sistema antioxidante en jugadores de handball (sin consumir ningún tratamiento antioxidante), se observó que la SOD disminuyó en el plasma de los jugadores mientras que el resto de las enzimas (CAT y GPx) no presentaron ningún cambio significativo; lo cual se justificó explicando que el ejercicio ocasionó un desbalance en el sistema antioxidante, agotando las reservas antioxidantes del organismo (Djordjevic *et al.*, 2012).

En los resultados obtenidos en el presente estudio, se observa que la actividad de SOD, así como de CAT, disminuyó tanto en los participantes que consumieron *Spirulina maxima* como en los que no lo hicieron. Es muy claro que la disminución en la actividad de ambas enzimas es mayor en el grupo de participantes que consumieron el placebo.

Es posible que en este estudio haya ocurrido algo similar a lo que sucedió en el estudio de Djordjevic; probablemente la dosis de *Spirulina maxima* que

consumieron los participantes no fue suficiente para combatir la cantidad de radicales libres generados por el ejercicio, lo que ocasionó un desbalance en el sistema. Sin embargo el efecto antioxidante o precursor del sistema antioxidante que se esperaba de la *Spirulina maxima* está presente, ya que el grupo que la consumió presentó una disminución menor que el grupo placebo.

La CAT y la SOD no son las únicas enzimas en actuar contra los radicales libres que se generan en el organismo. La evidencia nos indica que la actividad enzimática de la GPx aumentó de manera significativa en el grupo que consumió *Spirulina maxima*, mientras que disminuyó en el grupo que consumió placebo. Esto mismo ocurrió con la concentración de GSH en plasma.

Bermejo *et al.*, (2008) encontraron resultados muy similares al inducir un estado de estrés oxidativo, aumentando la concentración de Fe^{2+} en las células del neuroblastoma. En este estudio se reportó que el GSH, la GPx, y la GR aumentaron en las muestras que fueron tratadas con *Spirulina platensis* (Bermejo *et al.*, 2008).

También Kalafati *et al.*, (2010) realizaron un estudio en el que participaron nueve deportistas entrenados, los cuales recibieron un tratamiento de *Spirulina platensis* de 6 g/día, por cuatro semanas. Los resultados revelan que el GSH aumentó en los deportistas que consumieron *Spirulina platensis*; se determinó que el contenido de glutatión en el organismo depende de la concentración de cisteína o sus precursores (N-acetilcisteína y metionina) actuando como aminoácido limitante (Kalafati *et al.*, 2010). La *Spirulina (platensis o maxima)* tiene un alto contenido de cisteína (590 mg/ 100 g_{Spirulina en polvo}) y metionina (1170 mg/ 100 g_{Spirulina en polvo}) que promueven el aumento de GSH en el plasma (Gutiérrez *et al.*, 2015).

En los resultados de GPx y GSH se observa el efecto antioxidante que la *Spirulina maxima* puede proveer al organismo debido a su contenido de aminoácidos precursores del glutatión, y al ser el glutatión un sustrato de la GPx, si aumenta la concentración del primero la actividad enzimática de la GPx aumentará como consecuencia.

Por otro lado diversos autores (Popp *et al.*, 2011; Kabasakalis *et al.*, 2014; Córdova *et al.*, 2015) han estudiado los efectos del estrés oxidativo en el sistema antioxidante de deportistas (jugadores de handball, nadadores y ciclistas, respectivamente) sin recibir ningún tratamiento antioxidante. En los tres estudios mencionados, se encontró que la concentración en plasma de GSH y GPx disminuyó debido a su alto consumo por el organismo.

El último parámetro evaluado fue la cantidad de TBARS en el plasma de los participantes. Los resultados revelan que los participantes de ambos grupos (placebo y *Spirulina maxima*) tuvieron una disminución en la concentración de TBARS.

El grupo que consumió *Spirulina maxima* tuvo una disminución en la concentración de TBARS en plasma, ya que al aumentar la actividad y la concentración de GPx y GSH, respectivamente, disminuyó el H₂O₂, por lo tanto, la posibilidad de obtener radicales libres en el plasma, y así continuar con la oxidación lipídica.

Lu et al., (2006) y *Bermejo et al.*, (2008) hallaron que la oxidación de los lípidos disminuye al consumir *Spirulina platensis*, lo que se atribuye al aumento de las enzimas antioxidantes y del GSH en plasma; mientras que los participantes del grupo placebo tuvieron un aumento en el contenido de TBARS (*Lu et al.*, 2006; *Bermejo et al.*, 2008).

Además, en otros estudios en que se ha evaluado el efecto del estrés oxidativo ocasionado por el ejercicio (handball y natación) sin consumir antioxidantes, se ha encontrado que después de realizar las pruebas de esfuerzo, los participantes muestran un aumento en el contenido de TBARS en plasma (*Popp et al.*, 2011; *Djordjevic et al.*, 2012; *Kabasalakis et al.*, 2014).

Se esperaba que la concentración de TBARS aumentara en el grupo placebo, sin embargo disminuyó; ya que los participantes tienen un nivel de entrenamiento muy alto y una dieta controlada, es posible que su respuesta de recuperación ante el ejercicio haya incidido en los niveles de TBARS. Otra posible respuesta a esto es que la disminución de TBARS sea consecuencia del efecto placebo, al ser un

estudio aleatorizado ciego simple los participantes desconocían el tratamiento que estaban tomando, creyendo que consumían *Spirulina maxima* y que su estado antioxidante mejoraría (Peciña *et al.*, 2015).

Con base a los estudios consultados y a los resultados obtenidos en el presente estudio, se propone en la imagen 16, el siguiente mecanismo de acción de la *Spirulina maxima* sobre el sistema antioxidante.

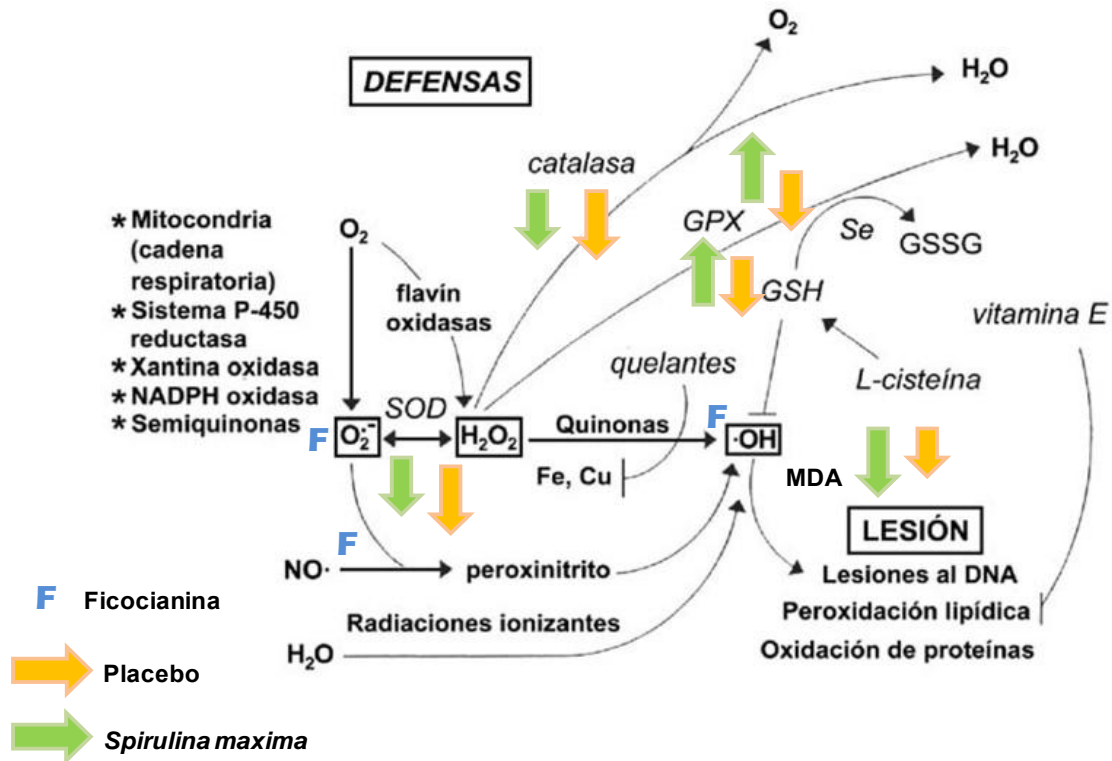


Imagen 16. Mecanismo de acción sugerido de la *Spirulina maxima* sobre el sistema antioxidante de los participantes del estudio presente.

Como se mencionó anteriormente, es posible, que debido al nivel de esfuerzo realizado por los participantes durante su entrenamiento, la SOD se haya visto ligeramente inhibida; aun cuando su actividad disminuyó, sigue llevando a cabo su función. La CAT también disminuyó, pero la responsable de actuar en contra del H_2O_2 fue la GPx; la GPx aumento así como también aumentó la concentración de GSH. Al aumentar la GPx y el GSH, se generó menos HO^{\bullet} y por lo tanto disminuyó el contenido de MDA, en los participantes que consumieron *Spirulina maxima*.

Como ya se ha mencionado, un componente muy importante de la *Spirulina* es la ficocianina. En el imagen 16 se encuentran indicados posibles puntos de acción de la ficocianina sobre el sistema antioxidante. Aun cuando es posible que la dosis de *Spirulina* no haya sido suficiente para ver un aumento en algunas enzimas, la ficocianina pudo actuar secuestrando a los radicales $O_2^{\bullet-}$ y HO^{\bullet} , ocasionando el descenso de la concentración de MDA en el plasma de los participantes.

Además de la *Spirulina*, es posible consumir otros antioxidantes. Como describe Brakaahuis *et al.*, (2015) en un estudio que realizó con nadadores, observó que al consumir vitamina E y resveratrol, los deportistas presentaron mejoras en su sistema antioxidante y en su rendimiento. También recomienda el consumo de *Spirulina (maxima o platensis)* para disminuir los efectos del estrés oxidativo ocasionado por el ejercicio, así como el consumo de N-acetilcisteína, la cual mejora el rendimiento muscular, disminuye el daño celular por radicales y es un precursor del GSH. Además recomienda el consumo de vitamina E que protege a las células de los productos generados en la oxidación de los lípidos (Braakahuis *et al.*, 2015).

Wu *et al.*, (2016), han encontrado en varios estudios que la *Spirulina (maxima o platensis)* tiene la propiedad de incrementar los niveles de enzimas antioxidantes en humanos y en murinos, así como de disminuir el contenido de radicales libres en el organismo, especialmente en sangre, por ellos recomienda su ingesta como un complemento alimenticio para mejorar el estado antioxidante del organismo (Wu *et al.*, 2016).

Douglas Popp *et al.*, 2011 y Djordjevic *et al.*, 2012, sugieren que para atenuar los efectos del estrés oxidativo es muy importante llevar una dieta rica en antioxidantes tales como: vitamina E, N-acetilcisteína, glutatión, ácido lipóico y coenzima Q10. Además de tener presente que el daño oxidativo no está dado únicamente por el nivel de entrenamiento que se efectúa, sino también por la cantidad y duración que se realice de ejercicio (Popp *et al.*, 2011; Djordjevic *et al.*, 2012).

IX. **C**onclusión

Con base en los objetivos planteados en este estudio, se concluye que el consumo continuo de la *Spirulina maxima*, incide en la mejora del sistema antioxidante, específicamente en la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa, catalasa y principalmente en la glutatión peroxidasa; así mismo aumenta la concentración de glutatión en plasma, y atenúa la generación de los productos finales de la lipoperoxidación (TBARS), en nadadores entrenados.

X. **C**omentarios sobre el proyecto

Es importante mencionar que las conclusiones obtenidas en este estudio, se deben manejar con cautela, ya que no es posible estar totalmente seguros de que la *Spirulina maxima* haya sido la única responsable en los cambios encontrados. Existen variables difíciles de controlar como la dieta que siguieron los participantes y los hábitos que llevan en el día a día, las cuales pudieron haber afectado a los resultados.

Factores como el tamaño de muestra, la dispersión en cuanto a las edades de los participantes, y el control de dieta, deben ser considerados en futuros estudios.

Anexo I. Descripción de las técnicas bioquímicas empleadas.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA SUPERÓXIDO DISMUTASA POR EL MÉTODO DE KONO, 1977.

Reactivos

Reactivo	Concentración
Tritón x100	0.6%
EDTA	0.1 mM
Na ₂ CO ₃	50 mM
NBT	192 μM
Hidrocloreuro de hidroxilamina	20 mM

Procedimiento

Añadir 25 μL de muestra + 25 μL de tritón + 25 μL de EDTA + 325 μL de Na₂CO₃ + 62.5 de μL NBT



Incubar a 37 °C durante 10 minutos

Añadir 25 μL de hidrocloreuro de hidroxilamina



Preparar un blanco con agua destilada en lugar de la muestra

Leer el blanco y las muestras a 560 nm cada minuto durante 8 minutos

Cálculos

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{\Delta \text{Blanco} - \Delta \text{Muestra}}{\Delta \text{Blanco}} \times 100$$

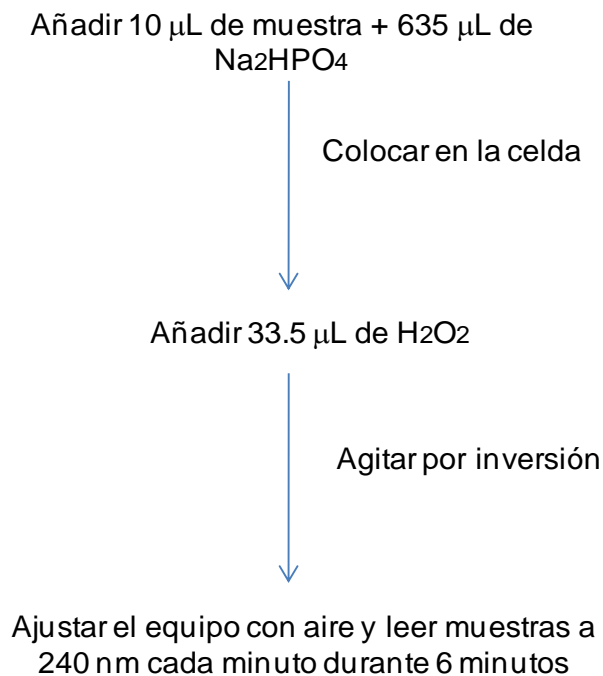
50% *inhibición* → 1 USOD

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA CATALASA POR EL MÉTODO DE AEBI, 1984

Reactivos

Reactivo	Concentración
Tritón (solo para tejido)	1%
Na ₂ HPO ₄	0.02 M (pH 7.2)
H ₂ O ₂	0.03 M

Procedimiento



Cálculos

$$K = \left(\frac{\ln \frac{A_i}{A_f}}{\Delta t} \right) \times 100$$

Donde:

- A_i → absorbancia inicial
- A_f → absorbancia final
- Δt → delta de tiempo

Expresar como: K por mL de plasma

DETERMINACIÓN DE LA ENZIMA GLUTATIÓN PEROXIDASA POR EL MÉTODO DE WENDEL, 1984.

Reactivos

Reactivo	Concentración	Observaciones
Buffer de fosfatos	50 mM	pH 7.0, con 0.4 mM EDTA
Azida de sodio	1.0 mM	Disolver en el buffer
β - NADPH	0.12 mM	
GR	100 U/ mL	Preparar al momento
GSH	200 mM	Preparar al momento
H ₂ O ₂	0.042%	Preparar al momento

Procedimiento

Preparar reactivo de trabajo: añadir 9.20 mL de azida de sodio + 0.10 mL de GR+ 0.05 mL de GSH + 10 mL de NADPH



Añadir 12.5 μ L de muestra + 750 μ L de reactivo de trabajo + 12.5 μ L H₂O₂



Preparar un blanco de muestra

Leer absorbancia del blanco y las muestras a 340 nm, cada 30 segundos durante 6 minutos

Cálculos

$$\frac{UGpx}{mL} = \frac{(\Delta Am - \Delta Ab)(Vf)}{(\epsilon)(Vm)}$$

Donde:

- ΔAm → Δ de absorbancia de la muestra
- ΔAb → Δ de absorbancia del blanco
- Vf → volumen final
- ϵ → coeficiente de extinción molar del NADPH
- Vm → volumen de la muestra

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUTATIÓN POR EL MÉTODO DE ELLMAN, 1958

Reactivos

Reactivos	Concentración	Observaciones
Na ₂ HPO ₄	0.3 M	
DTNB	0.15 mM	Disolver en citrato de sodio al 1%
GSH	0.1 mg/mL	

Procedimiento

1. Preparar una curva patrón de GSH
2. Tratamiento de muestras:

Añadir 20 µL de muestra + 50 µL de DTNB +
610 µL de Na₂HPO₄



Incubar durante 5 minutos a temperatura
ambiente



Centrifugar a 10,000 rpm durante 5 minutos



Tomar 305 µL del sobrenadante



Leer absorbancia a 412 nm

Cálculos

La concentración de GSH en las muestras se calculará a partir de la ecuación de la recta que se obtiene al graficar la curva patrón. La concentración se debe expresar como mg de GSH por mL de plasma.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS AL ÁCIDO TIOBARBITÚRICO (TBARS) POR EL MÉTODO DE PUNTEL, 2007

Reactivos

Reactivos	Concentración	Observaciones
HCl	0.6 N	
TBA	0.6%	Disolver en tris 0.026 M
TEP		

Procedimiento

1. Preparar un curva patrón utilizando TEP (1 μ L/ 100 mL)
2. Tratamiento de muestras:

Añadir 100 μ L de muestra + 150 μ L de HCl +
500 μ L de TBA



Incubar durante 10 minutos en baño de agua
hirviendo



Leer absorbancia de las muestras a 535 nm

Cálculos

Calcular la relación entre los mg de TEP y los de MDA a partir de la curva patrón

$$2.2 \mu\text{g de TEP} \leftrightarrow 0.72 \mu\text{g de TBA}$$

$$\rho_{TEP} = 0.918 \frac{\text{g}}{\text{mL}}$$

Calcular el factor de relación entre las absorbancias de la curva patrón y los mg de MDA

$$F = \frac{\mu\text{g de MDA}}{A}$$

La concentración de MDA en las muestras se calculará multiplicando la absorbancia de la muestra por el factor que se obtiene de la curva patrón, y se debe expresar como μ g de MDA por mL de plasma.

XI. Bibliografía

Abd El-Baky, H., El Baz, F., & El-Baroty, G. (2009). Enhancement of antioxidant production in *Spirulina platensis* under oxidative stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(3), 623–631.

Aebi H. (1984). Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.

Baker, J., McCormick, M., & Robergs, R. (2010). Interaction among Skeletal Muscle Metabolic Energy Systems during Intense. *Exercise. Journal of Nutrition and Metabolism*, 1- 13.

Bermejo, P., Piñero, E., & Villar, A. (2008). Neuroprotection by *Spirulina platensis* protean extrac and phycocyanin against iron- induced toxicity in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Toxicology in Vitro*, 22, 1496-2502.

Billat, V. (2002). Fisiología y metodología del entrenamiento de la teoría a la práctica (pp 51- 55). Barcelona, España: Paidotribo.

Braakhuis, A. J., y Hopkins, W. G. (2015). Impact of Dietary Antioxidants on Sport Performance: A Review. *Sports Medicine*, 45(7), 939–955.

Cascales, M. (2008). ¿Por qué envejecemos? Recuperado de: [http://portal.uned.es/portal/page?_pageid=93,25140344&_dad=portal&_schema=P](http://portal.uned.es/portal/page?_pageid=93,25140344&_dad=portal&_schema=PORTAL)
[ORTAL](http://portal.uned.es/portal/page?_pageid=93,25140344&_dad=portal&_schema=P). Consultado: febrero de 2017.

Chahuan, B., Kumar, G., Kalam, N., & Ansari, S. (2013). Current concepts and prospects of herbal nutraceutical: A review. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 4(1), 4-8.

Chamorro, G., Martínez, E., Pérez, R., Perez, A., Fabila, L., & Gutiérrez, G (2015). Preclinical antitoxic properties of *Spirulina* (*Arthrospira*). *Pharmaceutical Biology*, 209(October), 1–9.

Córdova, A., Sureda, A., Albina, M., Lineres, V., Bellés, M., & Sánchez, D. (2015). Oxidative Stress Markers After a Race in Professional Cyclists. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 25, 171-178.

Diario Oficial de la Federación (2009). NORMA Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Recuperado de: <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/3980/salud/salud.htm>. Consultado: marzo de 2017.

Dirección General del Deporte Universitario (2016). Natación. Recuperado de: <http://www.deportes.unam.mx/disciplinas/natacion.php>. Consultado: agosto de 2016.

Djordjevic, D., Dejan, G., Puzovic, V., Vuletic, M, Zivkovic, V., Barudzic, N., Radovanovic, D., Djuric, D., & Jakovljevic, V. (2012) Changes in Athlete's Redox State Induced by Habitual and Unaccustomed Exercise. *Hindawi Publishing Corporation, Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 1-7.

Ellman, C. (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82,70-77.

EUR- Lex (2002): Garantizar la seguridad de los complementos alimenticios en la Union europea. Recuperado de: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/?uri=URISERV%3A121102>. Consultado: marzo de 2017.

European Food Safety Authority (EFSA) (2017): Food Supplements. Recuperado de: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/food-supplements>. Consultado: marzo de 2017.

Federación Mexicana de Natación (2016): ¿Quiénes somos? Recuperado de: <http://www.fmn.org.mx/>. Consultado: agosto de 2016.

Fernández, A. (2006). Control del movimiento: control muscular del movimiento. Estructura y función del músculo esquelético. En: López, J., y Fernández, A (ed.), *Fisiología del ejercicio* (pp. 81-90). Madrid, España: Editorial Panamericana.

Fernández, A. (2006). Fuentes energéticas en el ejercicio: sistemas energéticos en el ejercicio. En: López, J., y Fernández, A (ed.), *Fisiología del ejercicio* (pp.183-221). Madrid, España: Panamericana.

Fernández, J., Da Silva, M., & Fiñana, I. (2009). Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*, 2, 19-34.

Food and Drug Administration, FDA (2016). Dietary Supplements. Recuperado de: <https://www.fda.gov/Food/DietarySupplements/>. Consultado: marzo de 2017.

Food and Drugs Administration (FDA) (2014). Agency Response Letter GRA NoticeNo.GRN000424. Recuperado de: <https://www.fda.gov/food/ingredientpackaginglabeling/gras/noticeinventory/ucm335743.htm>. Consultado: enero de 2017.

Food and Drugs Administration (FDA) (2017). What is the difference between a dietary supplement and a conventional food: <https://www.fda.gov/AboutFDA/Transparency/Basics/ucm194357.htm>. Consultado: marzo de 2017.

Galván, T., Barrilao, R., Garcíac, J., Ochoad, J. Ocaña, W. (2008). Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*; 1(2), 61-72.

Glazer, A. (1985). Light harvesting by phycobilisomes. *Biophysical Chemistry*, 14, 47–52.

Gutiérrez, G., Fabila, L., & Chamorro, G. (2015). Aspectos nutricionales y toxicológicos de spirulina (arthrospira). *Nutrición Hospitalaria*, 32(1), 34–40.

Hargreaves M. (2000). Skeletal Muscle Metabolism During Exercise in Humans. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 27, 225-228.

Kabasakalis, A., Tsalis, G., Zafrana, E., Loupos, D. & Mougios, V. (2014). Effects of endurance and high-intensity swimming exercise on the redox status of adolescent male and female swimmers. *Journal of Sports Sciences*, 32:8, pp. 747-756.

Kalafati, M., Jamurtas, A., Nikolaidis, M., Paschalis, V., Theodorou, A., Sakellariou, G., & Koutedakis, Y. (2010). Ergogenic and Antioxidant Effects of Spirulina Supplementation in Humans. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 42 (1), 142-151.

Kenney, W (2012). Estructura muscular: Estructura y función del músculo durante el ejercicio. En: Kenney, L., Wilmore, J & Costill, D (ed.), *Fisiología del deporte y el ejercicio* (pp. 27-36). Illinois, Estados Unidos: Panamericana.

Konigsberg, M (2008). Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas. CDMX, México: Manual Moderno.

Kono, Y. (1977). Generation of superoxide radical during autoxidation of hydroxylamine and an assay for superoxide dismutase. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 186(1), 189–195.

Koolman J., Röhm, K. (2005). *Color Atlas of Biochemistry* (pp. 284-285). Nueva York, Estados Unidos: Thieme

López, A. (2006). Fisiología del ejercicio: concepto y revisión histórica. En: López, J., y Fernández, A (ed.), *Fisiología del ejercicio* (pp. 1-28). Madrid, España: Editorial Panamericana.

Lu, H., Hsieh, C., Hsu, J., Yang, Y., & Chou, H. (2006). Preventive effects of *Spirulina platensis* on skeletal muscle damage under exercise- induced oxidative stress. *European Journal of Applied Physiology*, 98, 220-226.

Luqueño, I., Juárez, M., & Torres, P. (2011). Spirulina un alimento del pasado ¿para el futuro? *Revista ¿Cómo ves?*, 154, 30-32.

Martínez, J., Torres, P., y Juárez, M. (2011). El Glutatión y su Asociación con las enfermedades neurodegenerativas, Esquizofrenia, El Envejecimiento y la Isquemia Cerebral. *Revista de Educación Bioquímica (REB)*, 30(2), 56–67.

Morán, M. (2006). Control del movimiento: control muscular del movimiento. Tipos de fibras musculares. En: López, J., y Fernández, A (ed.), *Fisiología del ejercicio* (pp. 91-97). Madrid, España: Editorial Panamericana.

Müller, W. (2008). Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida (p.527). Barcelona, España: Reverte.

Myers, J., Kaminsky, L. A., Lima, R., Chistle, J., Ashley, E., & Arena, R. (2017). A Reference Equation for Normal Standards for VO₂ Max: Analysis from the Fitness Registry and the Importance of Exercise National Database (FRIEND Registry). *Progress in Cardiovascular Diseases*. Accepted Manuscript.

Nutrición, Salud y Deporte blog (2011), Tipos de fibras musculares y su relación con el deporte. Recuperado de: <https://www.hsnstore.com/blog/tipos-de-fibras-musculares-su-relacion-con-el-deporte/>. Consultado: febrero de 2017.

Organización Mundial de la Salud (2016). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Recuperado de: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/pa/es/>. Consultado: agosto de 2016.

Palacios, N., Montalvo, Z., y Ribas, A. (2009). Manual de alimentación, nutrición e hidratación en el deporte. Madrid, España: Consejo Superior del Deporte.

Peciña, M., Bohnert, A., Sikora, M., Avery, E., Langenecker, S., Mickey, B., & Zubieta, J. (2015). Placebo-Activated Neural Systems are Linked to Antidepressant Responses. *JAMA Psychiatry*, 54(9), 1831–1840.

Popp, D., Macedo, R., Bolin, A., Alves, B., Hatanaka, E., & Otton, R. (2011). Cytokines and Oxidative Stress Status Following a Handball Game in elite Male Players. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-11.

Puntel, R., Roos, D., Paixão, M., Braga, A., Zeni, G., Nogueira, C., Rocha, J. (2007). Oxalate modulates thiobarbituric acid reactive species (TBARS) production in supernatants of homogenates from rat brain, liver and kidney: Effect of diphenyl diselenide and diphenyl ditelluride. *Chemico-Biological Interactions*, 165(2), 87–98.

Pyne, D. & Sharp, R. (2014). Physical and Energy Requirements of Competitive Swimming Events. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 24, 351- 359.

Qing R, Ye H, Lan L, & Fu H (2003) Study of the activity of two antioxidant enzymes of *Spirulina maxima* under excessive light stress. *Journal of Sichuan University*, 40(3), 565–569.

Ramírez, L., & Olvera, R. (2006). Conocimientos acerca del alga *Spirulina* (Arthrospira). *Interciencia*, 31 (9), 657-663.

Real Academia Española (2016). Definición de ejercicio. Recuperado de: <http://dle.rae.es/?id=ESTMxfN>. Consultado: agosto de 2016.

Rodríguez, R., Ortiz, R., Blas, V., Hernández, A., & Cano-Europa, E. (2012). Phycobiliproteins or C-phycoocyanin of Arthrospira (*Spirulina*) *maxima* protect against HgCl₂-caused oxidative stress and renal damage. *Food Chemistry*, 135(4), 2359–2365.

Romay, C., Ramirez, O., & Gonzalez, R. (2001). Actividad antioxidante de la ficocianina frente a radicales peroxílicos y la peroxidación lipídica microsomal. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 20(1): 38-41.

Shoppecum (2014) Vías metabólicas utilizadas para generar energía. Recuperado de: <http://blog.shoppecum.com/deporte-y-salud/vias-metabolicas-utilizadas-para-obtener-energia/>. Consultado: marzo de 2017.

Souki, A., Mengual, E., Torres, D., Almanza, J., Urdaneta, Y., Chavez, Z., Molero, E., Medina, M., & Amell, A. (2007). Marcadores biológicos de estrés oxidativo. Distribución por edad y sexo de las concentraciones basales de MDA, NO y ácido úrico en niños y adolescentes de Maracaibo- Venezuela. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 26, 92-97.

Torres-Durán, P. V., Ferreira-Hermosillo, A., Ramos-Jiménez, A., Hernández-Torres, R. P., y Juárez-Oropeza, M. A. (2012). Effect of *Spirulina maxima* on

postprandial lipemia in young runners: a preliminary report. *Journal of Medicinal Food*, 15(8), 753–7.

Trujillo, A. (2012). Vías metabólicas y entrenamiento deportivo. *Revista cubana de Medicina del Deporte y la Cultura Física*; 7(2), 1-11.

Universidad Complutense de Madrid, Departamento de Biología Vegetal. Biodiversidad y Taxonomía de Plantas Criptógamas. Recuperado de: http://escalera.bio.ucm.es/usuarios/criptogamas/plantas_criptogamas/materiales/glosario.html. Consultado: enero de 2017.

Valenzuela, A., Valenzuela, R., Sanhueza, J., & Morales, G. (2014). Alimentos funcionales, nutraceuticos y foshu: ¿vamos hacia un nuevo concepto de alimentación? *Revista Chilena de Nutrición*, 41(2), 198–204.

Wasser, W. (1996). Lípidos. En: Damodaran, S., Parkin, K., y Fennema, O. (ed), *Química de los Alimentos* (p. 308). Zaragoza, España: Acribia.

Wendel A, Fausel M, Safayhi H, Tiegs G, & Otter R. (1984) A novel biologically active seleno-organic compound-II. Activity of PZ 51 in relation to glutathione peroxidase. *Biochemical Pharmacology*. 33(7):3241-3245.

Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímova, B., Wan, D., & Kuca, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of Spirulina: an overview. *Archives of Toxicology*, 90(8), 1817–1840.

Zabala Díaz Mikel (2007), La frecuencia cardiaca y la regulación del esfuerzo. Recuperado de: http://www.munideporte.com/imagenes/documentacion/ficheros/20080115190436frecuencia_cardiaca_regulacion_esfuerzo.pdf. Consultado: mayo de 2017.