



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Ciencias de la Nutrición Humana

Evaluación del efecto del consumo de jugo de betabel sobre estrés oxidativo y el rendimiento de nadadores máster durante una etapa de resistencia láctica.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Maestro en Ciencias de la Nutrición Humana

Presenta:

Juan Manuel Morales Hernández

Dirigido por:

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola

SINODALES

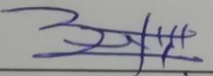
Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola
Presidente

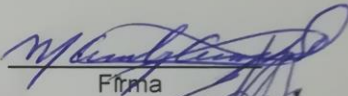
M. C. Vianney Curiel Cervantes
Secretario

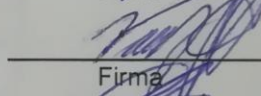
Dra. Iza Fernanda Pérez Ramírez
Vocal

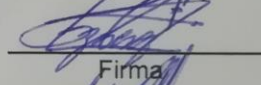
Dra. Minerva Ramos Gómez
Suplente

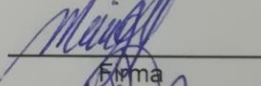
M.N.H. Francisco Josué López Martínez
Suplente


Dra. Juana Elizabeth Elton Punte
Directora de la Facultad de Ciencias Naturales

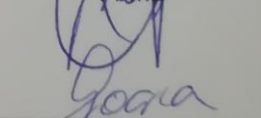

Firma


Firma


Firma


Firma


Firma


Dra. Ma. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y
Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Diciembre, 2018
México

Resumen

Introducción. El ejercicio de alta intensidad induce estrés oxidativo, el cual se ha relacionado con daño y fatiga muscular. Por lo que el consumo de antioxidantes ha ganado popularidad para disminuir estos efectos. Diferentes estudios tanto en humanos como en animales han mostrado que la respuesta antioxidante puede ser afectada por la edad y el consumo de alimentos ricos en antioxidantes. **Objetivo.** Evaluar el efecto del consumo de jugo de betabel sobre el rendimiento y estrés oxidativo de nadadores masters durante una etapa de resistencia láctica. **Materiales y métodos.** En un estudio experimental-cruzado trece nadadores master hombres y mujeres, (edad 45.8 ± 10.2 DS; media \pm DS) completaron dos bloques de entrenamiento de alta intensidad de una semana, separados por 14 semanas de lavado con 2 raciones de 140 ml de jugo de betabel durante 9 días. El rendimiento fue evaluado mediante un Test 6x50m antes y después de la suplementación. El tiempo, lactato y frecuencia cardíaca fueron registrados durante el test. Marcadores de estrés oxidativo como glutatión total (GSH), fueron analizados antes y después de la suplementación. **Resultados y Discusión.** Se encontró que las concentraciones de lactato al finalizar el test de rendimiento fueron significativamente menores en el grupo suplementado (JB) en comparación con el grupo control (CA) (13.1 ± 2.3 vs. 13.8 ± 1.9 mmol/L). JB disminuyó de manera significativa el tiempo para recorrer 50 metros libres en 2 de las 6 repeticiones que comprende el test de rendimiento ($P < 0.05$). Las concentraciones de GSH fueron incrementadas de manera significativa en el grupo CA después de los estímulos de resistencia láctica. **Conclusiones.** Estos resultados sugieren que la suplementación con jugo de betabel favorece las adaptaciones al ejercicio, disminuyendo las concentraciones de lactato y reduciendo los tiempos para recorrer los 50 m libres, además de tener un efecto antioxidante que podría ayudar a mejorar los procesos de contracción muscular.

Palabras clave: natación master, jugo de betabel, rendimiento, nitratos, betalainas

Summary

Introduction. High intensity exercise induces oxidative stress, which has been linked to damage and muscle fatigue. The consumption of antioxidants has gained popularity to diminish these effects. Several studies in humans and in animals have shown that the antioxidant response can be affected by age and the consumption of foods rich in antioxidants. **Aim.** To assess the effect of the consumption of juice of beets on oxidative stress and performance of swimmers masters during one resistance lactacid phase. **Material and Methods.** Eighteen master's swimmers (age $45.8 \pm SD$), completed two a week high-intensity training blocks, separated by a week of washing period. Oxidative stress markers such as reduced/oxidized glutathione, catalase, Glutathione peroxidase and superoxide dismutase were analyzed were tested before and after supplementation with 250 ml of juice of beets for 9 days. **Results y discussion.** We found that lactate levels were lower on the supplemented group in comparison with the control group (CA) (JB 13.1 ± 2.3 vs. CA 13.8 ± 1.9 mmol/L; $P < 0.05$). Speed average was significant reduced on the performance test by JB (44.00 ± 4.55 a 42.95 ± 4.15 seconds -s- $P < 0.05$) in comparison with CA (40.70 ± 5.08 a 41.56 ± 5.28 s). **Conclusion.** This result suggest that beetroot juice supplementation improve the exercise adaptations, lowering lactate levels and decreasing time trial on the 50 m free style.

Key words: master swimming, beetroot juice, performance, nitrate, betalain.

Dedicatorias

Agradecimientos

INDICE

RESUMEN	0
SUMMARY	1
DEDICATORIAS	1
AGRADECIMIENTOS	1
ÍNDICE DE TABLAS	5
ÍNDICE DE FIGURAS	5
I. INTRODUCCIÓN	6
II. ANTECEDENTES	8
2.1 Ejercicio.....	8
2.1.2 Natación	9
2.1.3 Natación <i>Máster</i>	9
2.1.4 Estímulos de resistencia láctica	10
2.1.1 Ejercicio y estrés oxidativo	12
2.2 Mecanismos antioxidantes	14
2.2.1 Glutación	14
2.2.2 Función antioxidante del Glutación	15
2.2.3 Sistemas de defensa antioxidante exógeno	16
2.3 Alimentos funcionales	16
2.3.1 Betabel (<i>Beta vulgaris</i>).....	17
2.3.2 Contenido nutricional.....	17
2.3.3 Efecto antioxidante del betabel	18
2.3.4 Efecto de los nitratos y nitritos en el ejercicio.....	22
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
IV. JUSTIFICACIÓN.....	27
V. HIPÓTESIS.....	28
VI. OBJETIVOS.....	28

6.1	Objetivo general	28
6.2	Objetivos específicos	28
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	30
7.1	Material Vegetal	30
7.1.1.	Determinaciones en el jugo de betabel	30
7.1.2.	Determinación de betalaínas.....	30
7.1.3.	Capacidad antioxidante en jugo de betabel	31
7.1.4.	Determinación de la capacidad antioxidante por ABTS*+	31
7.1.5.	Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH.....	32
7.1.6.	Cuantificación espectrofotométrica de fenoles totales	32
7.1.7.	Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales.....	33
7.1.8.	Cuantificación de nitratos en el jugo de betabel.....	33
7.2	Diseño de investigación	34
7.2.1.	Grupo de estudio.....	34
7.2.2.	Criterios de exclusión	34
7.2.3.	Criterios de eliminación	34
7.2.4	Protocolo de experimentación	34
7.3	Material antropométrico.....	38
7.4.	Material químico	39
7.4.1	Determinaciones de bioquímicas	39
7.4.2.	Determinaciones de la concentración de Glutación reducido	40
7.4.3.	Determinación de nitratos y nitritos en suero	42
7.5.	Análisis Estadístico	43
VIII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
8.1	Contenido de fenoles totales en jugo de betabel.....	43
8.2	Contenido de flavonoides en jugo de betabel.....	45

8.3	Contenido de betalaínas en jugo de betabel	46
8.4	Capacidad Antioxidante Total por DPPH	48
8.5	Capacidad antioxidante por ABTS	49
8.6	Contenido de nitratos en el jugo de betabel	50
8.7	Características de los sujetos.....	51
8.6	Concentraciones de Nitritos y Nitratos en suero	56
8.7	Concentraciones de lactato en sangre	56
8.7	Test de Rendimiento	58
8.8	Concentraciones de GSH.....	64
IX.	CONCLUSIONES	67
X.	BIBLIOGRAFÍA	68

Índice de tablas

Tabla 1. Contenido nutricional promedio por cada 100 g de betabel fresco.....	17
Tabla 2. Orden de adición de reactivos para realizar la curva estándar de GSH..	41
Tabla 3. Características generales de los nadadores máster participantes en el estudio.....	51
Tabla 4. Características bioquímicas de los participantes.....	53

Índice de figuras

Figura 1 Efecto del estrés oxidativo inducido por el ejercicio en el desarrollo de capacidades fisiológicas.....	13
Figura 2 Capacidad antioxidante determinada por DPPH (% de inhibición) en 10 bebidas populares de frutas y verduras.	19
Figura 3 Vía del Nitrato-Nitrito-Óxido nítrico.....	23
Figura 4 Representación esquemática del diseño experimentación	37
Figura 5 Contenido de fenoles en el jugo de betabel	44
Figura 6 Contenido de flavonoides en el jugo de betabel.....	45
Figura 7 Contenido de betacianinas en el jugo de betabel.....	47
Figura 8 Contenido de betaxantina en el jugo de betabel	47
Figura 9 Capacidad antioxidante determinada por DPPH del jugo de betabel.....	48
Figura 10 Capacidad antioxidante por ABTS del jugo de betabel	49
Figura 11 Contenido de nitrato en el jugo de betabel.....	50
Figura 12 Concentración de nitrato en suero tras una suplementación de 10 días con jugo de betabel (JB) y en el grupo CA (sin jugo).....	55
Figura 13 Concentraciones de lactato antes y después de los tratamientos tras realizar el test de rendimiento 6x50m. T-Student para muestras relacionadas $*=p< 0.05$. vs el grupo Jugo Basal.	57
Figura 14 Tasa de aumento en las concentraciones de lactato en el Test 6x50m....	58
Figura 15 Tiempo y frecuencia cardiaca obtenida durante el Test 6 x 50m antes y después de una suplementación con jugo de betabel y una etapa de resistencia láctica	61

I. INTRODUCCIÓN

El ejercicio físico aporta múltiples beneficios a la salud. De acuerdo a la organización mundial de la salud, durante las diferentes etapas de la vida es recomendable realizar ejercicio de manera moderada como parte de un estilo de vida saludable (Organización Mundial de la Salud, 2016). En este ámbito la natación es considerada como uno de los deportes más íntegros, debido a los diversos grupos musculares que utiliza, además de la evidencia mostrada por distintos estudios en donde se ha mostrado que la natación mejora el sistema cardiovascular, óseo, muscular, antioxidante, entre otros beneficios (Tanaka *et al.*, 1997 y Cox, *et al.*, 2010).

La natación como deporte competitivo comprende una gran demanda fisiológica, que va a depender de la intensidad, la duración, la distancia a recorrer, la condición física del nadador, entre otros aspectos. En este sentido, el entrenamiento de los nadadores va a ser caracterizado de acuerdo a las capacidades que se pretendan desarrollar, es decir, factores como la intensidad y el volumen de las sesiones estarán orientadas a la etapa de entrenamiento en la que el nadador se encuentre.

Según la Federación Internacional de Natación (FINA), el programa Masters comprende a los competidores con una edad mínima de 25 años. En esta categoría se pueden encontrar tanto a personas que fueron nadadores de alto en su época joven y que ya por la edad no pueden competir, pero se mantienen activos, o bien también se engloban a adultos que realizan natación para mantener su condición física y salud. La natación master es un programa de natación organizado por clubs o federaciones, para adultos, que teniendo la edad reglamentada, estén en posesión de la licencia nacional máster para la temporada en curso (Fina.org, 2016).

En las últimas décadas se han desarrollado estudios que demuestran que la práctica repetitiva y exhaustiva del ejercicio físico, aumentan la producción de especies reactivas de oxígeno (EROS) (Davies, *et al.*, 1982), lo que podría desencadenar en un daño a las membranas del miocito, y desencadenar una

respuesta inflamatoria exacerbada, que puede desencadenar en dolor excesivo y fatiga muscular posterior a la realización de este ejercicio. Adicionalmente se ha propuesto que las EROS y ERN pueden dañar otros órganos como hígado, sangre y posiblemente otras estructuras (Kabasakalis *et al.*, 2011).

La producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) junto con las denitrógeno (ERN) forma parte del metabolismo celular; y estas juegan un papel importante en la respuesta inmunitaria, distintas cascadas de señalización, la regulación de las funciones celulares, la contracción muscular y la adaptación al ejercicio (Fernández, *et al.*, 2008; Gamaley & Klyubin, 1999).

Sin embargo, una excesiva producción de ERO y ERN o un sistema antioxidante deficiente podría conllevar a una situación de estrés oxidativo no adecuado en personas físicamente activas que puede impactar su rendimiento y salud. En un grupo de nadadores masters formado por hombres mayores de 50 años, se reportó que después de un período de entrenamiento de intervalos de alta intensidad, se encontraban elevados principalmente los marcadores de estrés oxidativo como el peróxido de hidrogeno (Braun *et al.*, 2016).

Además del ejercicio, existen otros factores relacionados que pueden propiciar el desarrollo de estrés oxidativo, entre ellos la edad, ya que al aumentar esta se se observar una disminución de la respuesta antioxidante de las personas independientemente si realizan o no ejercicio (Done, *et al.*, 2016). pero también el estrés emocional, la composición corporal, la dieta, entre otros elementos que pueden propiciar un estado de estrés oxidativo exacerbado que puede afectar la salud y condición física de las personas, independientemente si realizan o no ejercicio (Rodríguez y Céspedes, 1999; Braun, *et al.*, 2016).

En los últimos años el tema de los antioxidantes ha tomado mayor relevancia dentro del ámbito deportivo, y se han realizado diferentes investigaciones donde se

estudia el efecto que tienen algunos alimentos ricos en antioxidantes sobre el desempeño deportivo y la salud de los deportistas (Clifford *et al.*, 2016; Myburgh, 2014 y Bell, *et al.*, 2014). Uno de ellos es el betabel, un tubérculo rico en betalainas, betacianinas, betaxantinas, betainas entre otros compuestos antioxidantes (Escribano, *et al.*, 1998).

En algunos estudios se ha comparado la capacidad antioxidante del jugo de betabel con otros jugos de frutas y verduras, mediante la utilización de técnicas de capacidad antioxidante como DPPH (Clifford *et al.*, 2015). Se encontró que el jugo de betabel presenta capacidad antioxidante comparable o más alta que otras frutas o vegetales conocidos por su efecto antioxidante.

Se ha demostrado que el consumo de jugo de betabel podría reducir los niveles de presión arterial, atenuar la inflamación, promover una adecuada función endotelial y disminuir los síntomas del daño muscular inducido por el ejercicio (Clifford *et al.*, 2016).

Sin embargo son pocos los estudios que se han realizado con el objetivo de evaluar el efecto del consumo del jugo de betabel y su efecto sobre algunos parámetros de estrés oxidativo en personas (Clifford *et al.*, 2016).

II. Antecedentes

2.1 Ejercicio

El ejercicio puede ser definido como aquella actividad física planeada y estructurada que conlleva a un aumento en el gasto de energía y de la frecuencia cardiaca (Gomes, Silva, & Oliveira, 2012). Son bastante conocidos los diversos beneficios sobre el organismo que tiene la realización regular y sistemática de ejercicio (mejora del tono muscular, promueve un peso saludable, aumenta la funcionalidad del aparato cardiovascular, aumento del metabolismo energético, estimula las defensas antioxidantes, aumento de la fuerza y de la resistencia muscular, disminución de

síntomas de osteoporosis, etc.) (Organización Mundial de la Salud, 2016). Por eso se ha convertido en un elemento fundamental en el tratamiento y la prevención de enfermedades crónico degenerativas. Sin embargo, en los últimos años se ha propuesto al ejercicio físico como una fuente importante de ERO. De manera general, se reconoce que sesiones aisladas de ejercicio incrementan el daño oxidativo al organismo, y el ejercicio realizado de forma regular y sistemática lo reduce (Gomez, Domenech, & Viña, 2008), mientras que el ejercicio extenuante y el sobreentrenamiento conllevan a un estado de estrés oxidativo (Radak, *et al*, 2008).

2.1.2 Natación

La natación es uno de los deportes más populares en todo el mundo. Se puede definir como *"la habilidad que permite al ser humano desplazarse en el agua, gracias a la acción propulsora realizada por los movimientos rítmicos, repetitivos y coordinados de los miembros superiores, inferiores y el cuerpo, y que le permitirá mantenerse en la superficie y vencer la resistencia que ofrece el agua para desplazarse en ella"* (Navarro, *et al.*, 2002). Natación es un deporte que conlleva una gran preparación física. La condición física de cada individuo está caracterizada por un conjunto de sistemas fisiológicos, que tendrán capacidad para responder y desarrollarse ante ciertos estímulos dados mediante el entrenamiento. Es importante mencionar que hay ciertos factores intrapersonales que mediarán estas adaptaciones, como son la historia deportiva de cada individuo, la edad, el sexo, entre otros elementos; además, factores extrínsecos como la dieta y el descanso intervienen también en la respuesta.

2.1.3 Natación Máster

Los atletas máster son individuos quienes entrenan sistemáticamente, y participan en competencias organizadas, diseñadas específicamente para adultos mayores (Reaburn & Dascombe, 2008). Los atletas máster pueden ser definidos como, aquellos sujetos que tiene una edad mayor de 25 años, los cuales tienen una gran condición física y experiencia competitiva y han completado su carrera competitiva formal (Reaburn & Dascombe, 2008); los "competidores de fin de semana" quienes

esporádicamente entrenan y compiten, o los competidores mayores que han reanudado el entrenamiento físico, después de largos periodos de inactividad física (Reaburn & Dascombe, 2008). Cada instituto nacional o internacional determina la edad para definir a un atleta master.

La natación máster es un programa de natación organizado por clubes o federaciones, para adultos, que teniendo la edad reglamentada en cada especialidad, esté en posesión de la licencia nacional máster para la temporada en curso. Esta modalidad de natación, comprende a aquellos nadadores que dejaron de competir por su edad, tanto aquellos adultos que comenzaron a practicar natación en su vida adulta. De acuerdo a la FINA el programa de Másters promoverá la aptitud, la amistad, la comprensión y la competencia a través de natación entre los competidores con una edad mínima de 25 años (Fina.org, 2017).

Si bien, el ejercicio estimula el sistema antioxidante endógeno, es importante mencionar que la edad es un factor determinante para la respuesta antioxidante (Done *et al.*, 2016). Estudios en animales y en humanos han demostrado que la función antioxidante va disminuyendo con la edad. (Done *et al.*, 2016) compararon la respuesta antioxidante entre un grupo de jóvenes y adultos mayores, los resultados demostraron que tras una sesión de ciclismo de 30 minutos al 70% VO₂max, hubo una mayor abundancia del factor de transcripción Nrf2 en el núcleo en los jóvenes, en comparación con los adultos. Adicionalmente, en los jóvenes se observó una mayor expresión de genes, como la hemo-oxigenasa, la quinona 1 reductasa.

2.1.4 Estímulos de resistencia láctica

La resistencia láctica se puede definir como la capacidad fisiológica que permite al nadador mantener altas velocidades de nado durante un tiempo determinado de aproximadamente 8 a 60 segundos, utilizando predominantemente la glucólisis anaeróbica láctica como fuente de energía, a pesar de la disminución del pH y la acumulación del lactato, con el fin de sostener un alto nivel de velocidad a lo largo de toda la prueba (Menshikov, 1990).

El propósito elemental al desarrollar esta capacidad, es aumentar de manera efectiva las posibilidades anaeróbicas del metabolismo y esto depende del aumento de la actividad de algunas enzimas glucolíticas y de la capacidad tampón de los músculos (tolerancia al lactato) (Ogita, 2011). Con este tipo de estímulos se pretende que el nadador se entrene con elevadas concentraciones de lactato, de tal manera que desarrolle las adaptaciones fisiológicas oportunas para aminorar el efecto de la acidosis. Los niveles de lactato aumentaran prácticamente hasta el máximo. Este tipo de entrenamientos produce su supercompensación máxima entre las 36 y 48 horas. De esta manera, se pretende que las capacidades de nadar a velocidades cercanas a la máxima, sean más duraderas.

La intensidad de este tipo de entrenamientos va a ser más alta que aquella que se alcanza cuando se trabaja el VO_{2max} , es decir, estará por encima de la velocidad crítica o la velocidad aeróbica máxima (VAM).

Como se mencionó anteriormente, una de las características de este tipo de estímulos es la disminución del pH celular, lo cual promueve la acidosis metabólica. Aunque el umbral anaeróbico sugiere que las condiciones dentro de la célula han cambiado de un ambiente favorable a condiciones ácidas (que favorecen la acidosis), la producción de ácido láctico, en sí misma no contribuye directamente a la disminución de la velocidad de nado que se experimenta al realizar repetidos esfuerzos máximos (Navarro, 2013). Es el acumulo de los iones de hidrogeno (H^+), lo que provoca la disminución del pH celular; cuando el equilibrio químico intramuscular se vuelve más ácido, la velocidad de la glucolisis se ve disminuida debido a la inhibición de algunas enzimas glucolíticas. Además, también se desarrolla un deterioro en la transmisión de las señales eléctricas que va de la neurona motora a la fibra muscular (después de una contracción, a las fibras les llevará más tiempo volver a relajarse, y prepararse para la siguiente contracción).

Por otra lado, algunas investigaciones *in vitro* han demostrado que el lactato *per se* puede aumentar la producción de O_2^- mediante la activación de algunas enzimas como la NADH oxidasa y propiciar un estado de estrés oxidativo; lo cual se ha relacionado con una disminución de la contracción muscular, fatiga crónica y deterioro del sistema inmune.

Por lo tanto a mayor acidosis, debido a la disminución del pH, mayor interferencia en la producción de fuerza en los músculos, mayor reducción del ritmo de la glucólisis, propiciar un estado de estrés oxidativo, lo que hace ralentizar la velocidad de nado.

2.1.1 Ejercicio y estrés oxidativo

Los radicales libres son compuestos altamente inestables que se producen de forma constitutiva en nuestro organismo, como resultado de diversos procesos metabólicos (Fernández *et al.*, 2008). Estas moléculas, al poseer una gran inestabilidad, oxidan a otras moléculas con la finalidad de volverse más estables (Gomes *et al.*, 2012). Sin embargo, bajo condiciones normales los radicales libres ejercen distintas funciones en nuestro organismo de como la señalización, proliferación o limitación del crecimiento celular, funciones inmunitarias, mejora el recambio tisular e incluso sobre la contracción muscular (Fernández *et al.*, 2008).

Cuando la producción de las especies reactivas de oxígeno superan a las defensas antioxidantes, se produce una situación conocida como estrés oxidativo. Se puede definir al estrés oxidativo “una alteración del balance entre los agentes oxidantes y antioxidantes de la célula, a favor de los primeros” (Sies, 1986). Distintos estudios han demostrado que la elevada producción de radicales libres puede provocar daños al miocito que da por resultado una exacerbada respuesta inflamatoria, y por consiguiente un fenómeno conocido como dolor muscular tardío y fatiga muscular (Clifford, *et al.*, 2016; Fernández *et al.*, 2008). De acuerdo a un estudio realizado por Braun en un grupo de nadadores masters, los niveles de estrés oxidativo son mayores después de un entrenamiento de alta intensidad (Braun, *et al.*, 2016).

En un inicio se consideraba que la principal fuente de ERO durante el ejercicio fuese la hiperreactividad mitocondrial, sin embargo en la actualidad se ha considerado una teoría más amplia, que considera la participación de distintas rutas metabólicas en la formación de ERO (Ji, 1999). Se ha propuesto que la formación de ERO no es directamente proporcional a las cantidades consumidas de oxígeno durante el ejercicio, tal como había sido descrito en condiciones de reposo, esto pone de manifiesto la asociación de otras fuentes de generación de ERO, como el fenómeno de isquemia reperfundión, las reacciones enzimáticas e inmunitarias, la autoxidación de catecolaminas, la producción de ácido láctico (Fernández, *et al.*, 2008), ver figura 1. En adición, las propias características del ejercicio (como la intensidad, la duración, tipo de contracción muscular) y las condiciones ambientales en las que se realiza el ejercicio (tipo de dieta, temperatura, presión de oxígeno, etc) podrían promover una mayor acción en los mecanismos de formación de ERO y conllevar a un deterioro o deficiencia de los sistemas encargados de neutralizar su acción, provocando daños moleculares y estrés oxidativo.

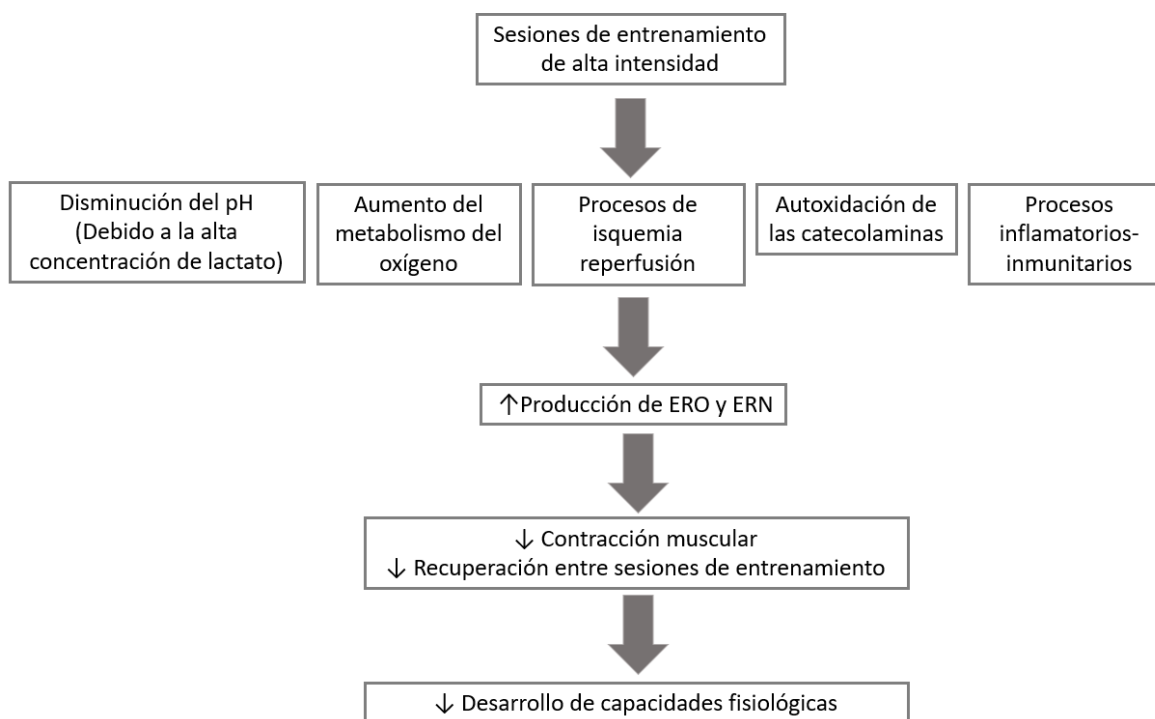


Figura 1 Efecto del estrés oxidativo inducido por el ejercicio en el desarrollo de capacidades fisiológicas

En las sesiones de ejercicio de alta intensidad como es el caso de los estímulos de resistencia láctica existen diferentes factores que pueden propiciar un estado de estrés oxidativo. Condiciones adversas como la disminución del pH (derivado de la alta concentración del lactato) y el aumento en el consumo de oxígeno van a dar como resultado una mayor producción de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (Cuevas *et al.*, 2005). Distintos estudios han relacionado un estado de estrés oxidativo con una menor capacidad para la contracción muscular y una recuperación retardada tras realizar sesiones de entrenamiento intenso. Esto podría retardar el desarrollo de las capacidades fisiológicas que se buscan lograr mediante el entrenamiento.

2.2 Mecanismos antioxidantes

Nuestro sistema biológico cuenta con un complejo sistema antioxidante, que puede combatir las especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. Esto mediante mecanismos enzimáticos como no enzimáticos. Los mecanismos antioxidantes comprenden enzimas antioxidantes (catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa) y antioxidantes de bajo peso molecular. (glutatión reducido, metionina, vitamina C, α -tocoferol, β -caroteno, etc) y mecanismos adaptativos que conllevan a la expresión de genes que codifican proteínas antioxidantes (Kalyanaraman, 2013).

2.2.1 Glutatión

El glutatión (γ -L-glutamyl-L-cisteinilglicina) es el compuesto tiolico no proteico más cuantioso en las células. El hígado es el órgano donde se encuentra más abundantemente (5-10 mM). Existe en forma reducida (GSH) y oxidada (GSSG) en una proporción de 100 a 1. En las células se haya en tres reservorios en el citosol en un 90%, en la mitocondria en 10% y una pequeña cantidad en el retículo endoplásmico. Se forma básicamente en dos pasos, primero a partir de glutamato y cisteína es producida γ - glutamylcisteína por acción de la γ -glutamylcisteína sintetasa,

después la enzima GSH sintetasa utiliza γ -glutamilcisteína y glicina para formar GSH, estas reacciones se llevan a cabo en presencia de ATP. Se ha descrito previamente a este compuesto como potente antioxidante y agente reductor ya que puede reaccionar con diversas moléculas electrofílicas y oxidantes como H_2O_2 , $O_2^{\bullet-}$ y $\bullet OH$. Se le ha asociado también con procesos fisiológicos entre los que destaca el metabolismo de xenobióticos, reacciones de intercambio de grupos tiólicos y procesos de señalización en los que está implicado el ciclo celular, proliferación y apoptosis. Debido a su poder reactivo el GSH es fácilmente reducido gracias a la presencia de sustancias químicas hepatotóxicas induciendo peroxidación lipídica, desestabilización de estructuras y daño celular (Anderson, 1998).

2.2.2 Función antioxidante del Glutati3n

Todos los organismos aerobios est3n sometidos a un cierto tipo de estr3s oxidativo en gran medida por la funci3n mitocondrial en la cadena de transporte electr3nico y fosforilaci3n oxidativa para la producci3n de energ3a. Los subproductos de estos procesos son especies altamente reactivas primordialmente el $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 y son capaces de inducir da3o celular, es por eso que este compartimento celular est3 equipado con un arsenal antioxidante en el que se incluye la enzima Super3xido dismutasa (SOD) y el glutati3n. Al parecer la funci3n b3sica del glutati3n es la de reducir el H_2O_2 producido por el consumo de oxigeno mitocondrial. Aproximadamente el 5% del ox3geno consumido produce H_2O_2 . El GSH juega un papel muy importante en la regulaci3n de la toxicidad por ROS al interrumpir la cadena de reacciones desde la producci3n del radical $O_2^{\bullet-}$ hasta la formaci3n de radicales $\bullet OH$. Adem3s su presencia es extremadamente importante en la mitocondria debido a que en este compartimento la catalasa est3 ausente; esta enzima encargada de reducir H_2O_2 est3 relegada al espacio peroxis3mico por lo tanto el GSH es el principal agente reductor de H_2O_2 dentro de la mitocondria. Para que el GSH realice su acci3n reductora necesita de la enzima Glutati3n peroxidasa (GPx) y posteriormente el GSSG formado vuelve a ser reducido por la Glutati3n reductasa (GR) dependiente de NADPH por acci3n de G6P deshidrogenasa que a su vez es proporcionado trav3s la v3a de las

pentosas fosfato. El balance entre GSH y GSSG tiene una gran influencia sobre el balance redox en los grupos tiólicos de las proteínas porque bajo condiciones de estrés oxidativo aumenta el nivel de GSSG lo cual puede aumentar la producción de proteínas con enlaces disulfuro mixto y esto afecta su estabilidad. Por esta razón, resulta importante mantener el índice GSH/GSSG elevado para evitar los eventos que ocurren como consecuencia de la depleción de los grupos tiólicos celulares: peroxidación lipídica, formación de protuberancias en la membrana, alteraciones en el metabolismo del calcio intracelular, entre otros.

2.2.3 Sistemas de defensa antioxidante exógeno

Los antioxidantes exógenos están presentes en fármacos y en la dieta incluyendo frutas, verduras, semillas, granos, especias, etc. Fitoquímico es la denominación genérica que reciben los compuestos orgánicos presentes en alimentos y plantas, muchos de ellos poseen un elevado potencial antioxidante. Estos compuestos antioxidantes conforman un heterogéneo grupo de moléculas capaces de capturar radicales libres que producen especies menos dañinas reduciendo el nivel de estrés oxidativo. Los compuestos más estudiados son la vitamina E, vitamina C, algunos minerales como el selenio, cobre, zinc y magnesio, los β -carotenos y los polifenoles entre los que se incluyen los taninos y flavonoides.

2.3 Alimentos funcionales

Es bien sabido que una dieta rica en frutas y verduras tiene múltiples beneficios a la salud, esto ha conllevado a un creciente interés por el consumo de los llamados “alimentos funcionales”, y su aplicación en la salud, la enfermedad y el ejercicio. Se puede definir a los alimentos funcionales como *“aquéllos que proporcionan un efecto beneficioso para la salud más allá de su valor nutricional básico. No constituyen un grupo de alimentos como tal, sino que resultan de la adición, sustitución o eliminación de ciertos componentes a los alimentos habituales, si bien en un concepto amplio de alimento funcional se incluyen no sólo los productos manufacturados, sino también ciertos alimentos tradicionales (aceite de oliva, tomate, legumbres, etc.) que contienen componentes con “otras propiedades” beneficiosas*

para la salud que los avances científicos van descubriendo, más allá de las conocidas desde el punto de vista nutricional clásico”(Díaz, et al., 2008).

Muchos componentes naturales de estos alimentos han sido identificados por mostrar efectos fisiológicos positivos, y algunos de ellos se han considerado por ser útiles para promover el rendimiento deportivo o para la prevención de lesiones.

La Comisión Australiana del Deporte, considera el jugo de betabel como un alimento con efectos ergogénicos, con suficiente evidencia científica para demostrar que su consumo puede mejorar el rendimiento deportivo.

2.3.1 Betabel (*Beta vulgaris*)

El betabel es la raíz profunda, grande y carnosa que crece en la planta del mismo nombre. Pertenece a la familia de las *quenopodiáceas* que comprende unas 1400 especies de plantas.

Se trata de una raíz casi esférica de forma globosa. Tiene un diámetro de entre 5 y 10 cm y puede pesar entre 80 y 200 g. Su color puede variar, desde rosáceo a violáceo y anaranjado rojizo hasta el marrón. La pulpa suele ser de color rojo oscuro y puede presentar en ocasiones círculos concéntricos de color blanco. El sabor, debido a que se trata de una raíz en la que se acumulan gran cantidad de azúcares, es dulce.

2.3.2 Contenido nutricional

En el siguiente cuadro se muestra la concentración de los compuestos orgánicos y minerales contenidos en el betabel por cada 100 g de producto comestible.

Tabla 1. Contenido nutricional promedio por 100 g de betabel fresco

Energía	45 Kcal - 193 Kj
Proteína	0.7 g
Lípidos totales	0.1 gr
Ceniza	0.55 gr
Calcio (Ca)	16 mg
Hierro (Fe)	0.80 mg
Magnesio (Mg)	23 mg

Fosforo (P)	40 mg
Potasio (K)	235 mg
Sodio (Na)	78 mg
Vitamina A	2 µg RAE
Vitamina C	4.9 mg

(Malien-Aubert, Dangles, & Amiot, 2001)

2.3.3 Efecto antioxidante del betabel

La suplementación con betabel puede funcionar como una estrategia útil para reforzar las defensas antioxidantes endógenas, ayudando a proteger los componentes celulares del daño oxidativo. El betabel es una excelente fuente de compuestos bioactivos, tales como ácido ascórbico, carotenoides, betalainas, nitratos y compuestos fenólicos (Clifford, *et al.*, 2015). Particularmente los pigmentos de la betalaina, han mostrado en varios estudios *in vitro*, proteger los componentes celulares del daño oxidativo (Kanner, *et al.*, 2001; Reddy, *et al.*, 2005; Tesoriere, *et al.*, 2008). En un estudio se demostró que dos metabolitos de la betalaina (betaninas y betanidinas) redujeron el daño al linoleato inducido por la citocromo C oxidasa y la oxidación de los lípidos de membrana inducidos por H₂O₂ activado metmioglobina y hierro libre (AA-Fe) (Kanner *et al.*, 2001). Así mismo, se reportó que la betanina, la betalaina más abundante encontrada en el betabel (300–600 mg·kg⁻¹), mostró mayor inhibición de la peroxidación lipídica. La alta actividad antioxidante de la betanina parecía derivarse de su excepcional capacidad de donación de electrones y su capacidad para desactivar radicales altamente reactivos dirigidos a las membranas celulares (Kanner *et al.*, 2001).

En algunos estudios se ha comparado la capacidad antioxidante del jugo de betabel con otros jugos de frutas y verduras, mediante la utilización de diferentes técnicas como DPPH y FRAP (Clifford *et al.*, 2015). Se encontró que el jugo de betabel presenta capacidad antioxidante comparable o más alta que otras frutas o vegetales conocidos por su efecto antioxidante. Únicamente el jugo de granada mostró una mayor capacidad antioxidante por la técnica FRAP.

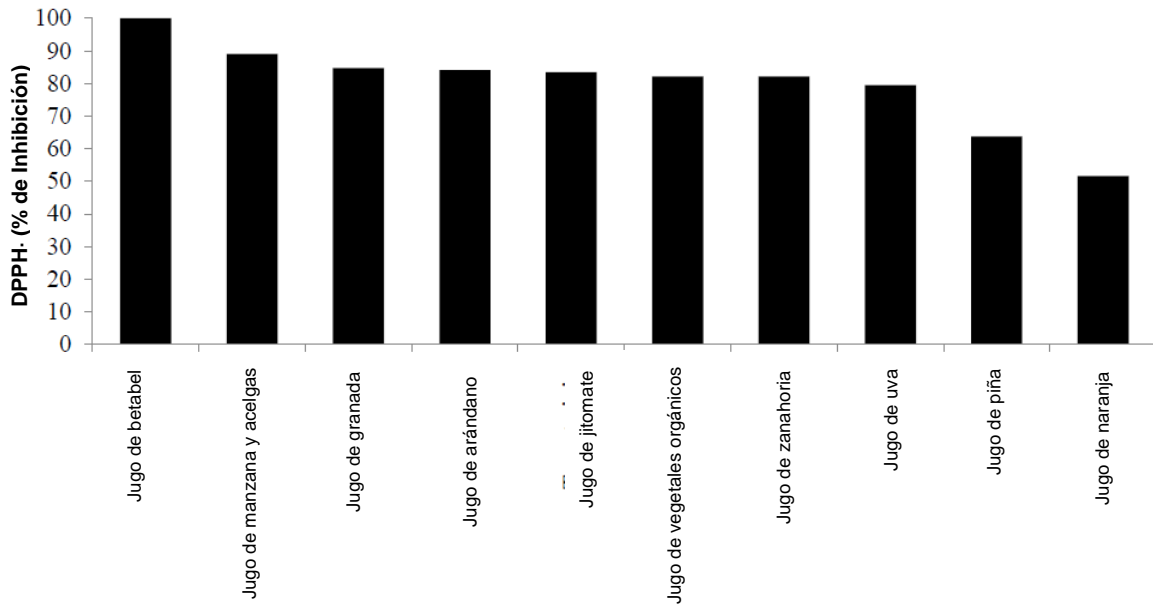


Figura 2 Capacidad antioxidante determinada por DPPH (% de inhibición) en 10 bebidas populares de frutas y verduras.

En un estudio con un modelo de ratas, a las que se le proporciono 1–3 mL·kg·pc⁻¹ de un extracto de pulpa de betabel durante 7 días previos a ser expuestas a 2 mL·kg·pc⁻¹ de tetracloruro de carbono (CC14), un establecido carcinógeno y generador de ERO (Vulić *et al.*, 2014). Luego de la administración de CC14, las ratas fueron sacrificadas y se les removió el hígado tanto a los animales pre-tratados con el extracto de betabel como aquellos que se utilizaron como control (únicamente con CC14). Las ratas que fueron tratadas con el extracto de betabel expresaron significativamente menores niveles de peroxidación lipídica medida por sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Además se observó, que las ratas a las que les proporciono el extracto de betabel mantuvieron la actividad de defensas antioxidantes endógenas (glutación reducido, glutación reductasa y peroxidasa) en concentraciones celulares normales, después de un daño oxidativo inducido por CC14. Esto conllevó a los autores a especular que frente a un ataque celular, en un modelo *in vivo*, el extracto de betabel podría ejercer efectos antioxidantes indirectos que estimulan los mecanismos de defensa antioxidante (Vulić *et al.*, 2014).

Así mismo, algunos estudios con jugo de betabel han demostrado efectos antioxidantes similares. En un estudio (Kujawska *et al.*, 2009) en el que a un grupo de ratas se les proporcionó jugo de betabel (8 mL·kg·pc·día⁻¹) por 28 días, mostraron menor peroxidación lipídica, oxidación proteica y daño al DNA, después de un daño hepático inducido por un xenobiótico.

En otro estudio, las ratas fueron alimentadas con jugo de betabel (8 mL·kg·pc·día⁻¹) y posteriormente (en el día 27 y 28 del periodo de alimentación con jugo de betabel) fueron tratadas con el carcinógeno 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) (Szaefer, *et al.*, 2014). Varios marcadores de daño hepático e inflamación fueron marcadamente incrementados después del tratamiento con DMBA, sin embargo, fueron significativamente reducidos en las ratas pre-tratadas con el jugo de betabel comparadas con el grupo control el cual solo recibió agua. Entre los dos grupos no hubo diferencias en el daño al DNA. No obstante, las ratas a las que se les administró únicamente el jugo de betabel (no tratadas con DMBA), mostraron un incremento de las enzimas detoxificantes de fase II (GST y NQO1), las cuales juegan un papel importante en la defensa antioxidante endógena (Szaefer *et al.*, 2014).

En el aspecto deportivo diversos estudios han demostrado que el jugo de betabel puede mejorar el tiempo de aparición agotamiento, el rendimiento en la carrera e incrementar la eficiencia muscular durante el ejercicio de moderada intensidad (Ormsbee, Lox, & Arciero, 2013). Sin embargo las betalainas no son el único componente antioxidante presente en el betabel. Pues el betabel contiene, varios compuestos fenólicos altamente bioactivos, tales como la rutina, epicatequinas y ácido cafeico, los cuales son conocidos como excelentes antioxidantes (Georgiev *et al.*, 2010; Frank *et al.*, 2005; Manach, *et al.*, 2005). Además, el nitrito y otros donadores de óxido nítrico parecidos al betabel, han demostrado que suprimen la formación de radicales y eliminan directamente las EROs altamente dañinos como el superóxido y el peróxido de hidrogeno, lo que sugiere que el nitrato también puede presentar efectos antioxidantes (Lundberg, *et al.*, 2011; Wink *et al.*, 2001).

De acuerdo a datos de recientes estudios realizados *in vivo*, las mejoras observadas en los mecanismos de defensa antioxidante endógenos, pueden deberse en parte a las betaninas y sus efectos en la cascada de señalización, que interviene en la transcripción de genes antioxidantes. En un estudio se encontró que, la betanina (extraída del betabel) dependientemente de la dosis (1-15 μm) aumenta la actividad del factor nuclear (derivado de eritroide 2) similar al 2 (Nrf2), un factor de transcripción que activa una secuencia promotora de gen: el elemento de respuesta antioxidante (ERA) responsable de la transcripción de varias enzimas antioxidantes endógenas (Sato, McKercher, & Lipton, 2014; Nguyen, Nioi, & Pickett, 2009; Esatbeyoglu *et al.*, 2014). En un estudio realizado por (Krajka-Kuźniak, *et al.*, 2013), se encontró que la betanina (en concentraciones de 2, 10 y 20 μm) activa la secuencia de unión Nrf2-ERA en líneas celulares hepáticas humanas no tumorales. Así, esto conlleva al incremento de la actividad y la expresión de mRNA de varias enzimas detoxificantes de fase II, incluyendo glutatión s-transferasa y NAD (P) H: quinona oxidoreductasa, el cual juega un importante papel contra los xenobioticos. Esto pone de manifiesto que el potencial antioxidante del betabel no está limitado únicamente al “barrido” y supresión de EROs, sino que incluye la habilidad de reforzar las defensas antioxidantes endógenas (Clifford *et al.*, 2015).

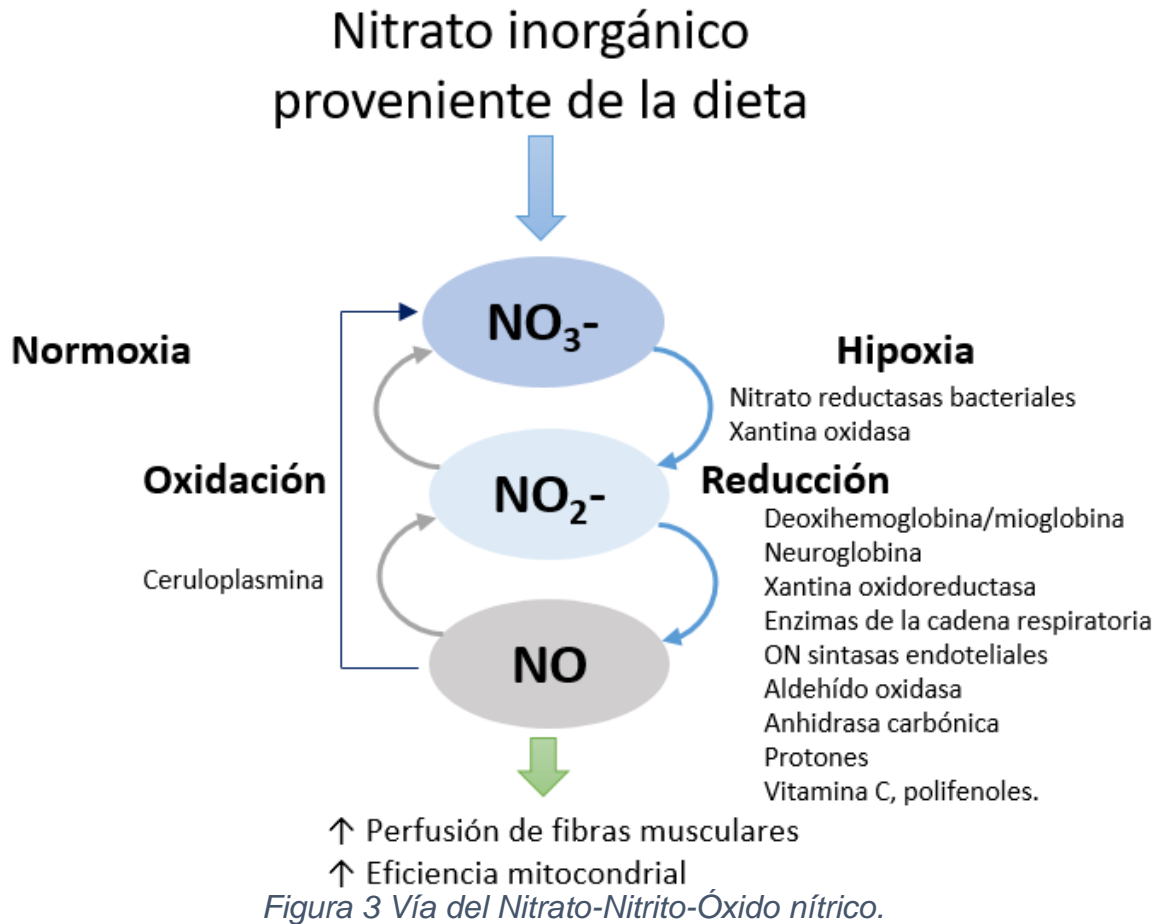
De manera general en los datos proporcionados, se muestra que el betabel es una excelente fuente de antioxidantes que protegen a los componentes celulares de la oxidación celular tanto en modelos *in vitro* como en modelos *in vivo*. Lo que pone de manifiesto que la suplementación con betabel pudiera ser una estrategia nutricional complementaria para ayudar a controlar estados de estrés oxidativo.

En este sentido existen varios reportes que demuestran que el daño muscular mecánico y metabólico, sostenido durante el ejercicio extenuante induce a un periodo corto de estrés oxidativo, que puede perdurar durante varios días hasta que el balance redox es restaurado (Gohil, *et al.*, 1988; Phillip *et al.*, 2014; Howatson *et al.*, 2010). En un reciente estudio en el cual se administró jugo de betabel a hombres activos recreacionalmente, se analizó si el consumo agudo (3 días) de jugo de betabel

atenuaría algunos marcadores de inflamación después de completar un test de salto (100-drop jumps) (Clifford, *et al.*, 2016). Los marcadores sanguíneos como creatina quinasa, interleucina-6, interleucina-8 y el factor de necrosis tumoral no se observaron significativamente distintos entre el grupo suplementado y el grupo placebo, sin embargo el grupo suplementado se recuperó más rápidamente en la realización del test de salto (CMJ) a las 48 y 72 horas. Así mismo, se observó un mayor umbral de dolor a la presión a las 24, 48 y 72 hrs en el grupo suplementado en comparación con el grupo placebo (Clifford *et al.*, 2016).

2.3.4 Efecto de los nitratos y nitritos en el ejercicio.

Hasta hace algunos años el nitrato y el nitrito eran considerados como subproductos inertes del metabolismo del óxido nítrico (ON), sin embargo recientes descubrimientos han demostrado que el nitrato puede servir como un precursor del ON mediante una reducción de nitritos independiente de oxígeno, a través de la vía de nitrato (NO_3^-) \rightarrow nitrito (NO_2^-) \rightarrow ON (Wylie *et al.*, 2015). La reducción de nitritos a ON, y por tanto su potencial para la señalización fisiológica mediada por ON tras la administración de NO_3^- , es realizada principalmente por bacterias comensales reductasas de nitrato en el tracto gastrointestinal. Una vez que se realizó la formación del nitrito, el organismo cuenta con numerosas vías para su posterior reducción a NO, entre las que se encuentra la hemoglobina, mioglobina, xantina oxidoreductasa, ascorbato, polifenoles y protones; por otro lado la oxidación de NO a nitrito es realizada a través de la ceruloplasmina ver figura 2 (Lundberg, Weitzberg y Gladwin, 2008). Estas conversiones son potenciadas particularmente en condiciones de hipoxia y la disminución del pH. Es sabido que el ejercicio de alta intensidad, como los estímulos de resistencia láctica, promueve condiciones de hipoxia y una disminución del pH, por lo que es probable que la síntesis de ON sea mayor tras una suplementación de NO_3^- , y por tanto la mejora sea mayor en ejercicios de esta modalidad (Wylie *et al.*, 2015).



Se ha observado que una suplementación dietética con NO_3^- eleva las concentraciones plasmáticas de NO_3^- y NO_2^- en una forma dependiente de la dosis (Wylie *et al.*, 2013). Estos aumentos en las concentraciones de nitritos en plasma se han asociado con mejoras en el rendimiento deportivo (Ormsbee *et al.*, 2013), sugiriendo que los efectos ergogénicos del jugo de betabel son en gran parte debido a la activación de la vía nitrato \rightarrow ON (Lansley *et al.*, 2010); (James *et al.*, 2013).

El desarrollo de fatiga durante la realización de ejercicios intermitentes de alta intensidad se ha vinculado con una disminución de las concentraciones de fosfocreatina (PCr); la recuperación del rendimiento de ejercicios intermitentes ha sido vinculada a la resíntesis muscular de PCr. De acuerdo a los datos obtenidos por el grupo de Fulford *et al.* (2013), una suplementación con NO_3^- disminuye el costo de PCr en la producción durante ejercicios intermitentes de alta intensidad, y por tanto

retrasa la reducción crítica de las concentraciones musculares PCr durante el ejercicio intermitente de alta intensidad (Vanhatalo *et al.*, 2011). Por otro lado, las últimas investigaciones han reportado que tras una suplementación con jugo de betabel hay un incremento en los procesos de perfusión-oxigenación en las fibras musculares tipo II, lo que podría facilitar la recuperación de las concentraciones de PCr en este tipo de fibras, las cuales son mayormente utilizadas durante los ejercicios intermitentes de alta intensidad (Gibala & McGee, 2008). Distintos grupos de investigación han demostrado que una suplementación dietética con nitratos mejora el manejo de calcio en el retículo endoplasmático junto con un aumento en la tasa de fuerza desarrollada por las fibras musculares tipo II (Hernandez *et al.*, 2012), un incremento en la producción de fuerza (Ormsbee *et al.*, 2013) y una disminución en el desarrollo de fatiga en altas frecuencias de contracción muscular (Breese *et al.*, 2013).

En conjunto todos estos resultados sugieren que, una suplementación con NO_3^- pueden tener un efecto ergogénico durante ejercicios intermitentes de alta intensidad. Por otra parte, considerando que cuando en el entrenamiento se aplican estímulos intermitentes de alta intensidad, los procesos de recuperación de PCr no se completan, es posible que una suplementación con jugo de betabel sea más efectiva durante este tipo de ejercicios cuando los intervalos de recuperación entre cada serie son relativamente cortos (Wylie *et al.*, 2016).

Distintas publicaciones han demostrado que la suplementación con nitratos en la dieta disminuye el consumo de oxígeno en el ejercicio, aumenta la tolerancia al ejercicio de alta intensidad, mejora los procesos de recuperación, reduce la sensación de fatiga (Ormsbee *et al.*, 2013). Estas observaciones sugieren que una suplementación con NO_3^- puede afectar de manera positiva el metabolismo energético de las fibras musculares, al aumentar la eficiencia de la síntesis de ATP mitocondrial y/o los procesos de consumo de ATP muscular.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Si no es que en su totalidad, la gran mayoría de los atletas después de retirarse de su etapa de élite, deciden continuar practicando el deporte de su especialidad durante el resto de su vida. Este tipo de atletas son llamados masters, y en natación esto no es una excepción, este grupo de nadadores comprende desde adultos jóvenes que van desde los 25 años hasta personas de la tercera edad, que si bien ya no dedican su vida exclusivamente al deporte, si invierten varias horas a la semana a alguna o varias disciplinas.

Son reconocidos los aportes a la salud que el ejercicio físico proporciona y este ha sido considerado como un elemento fundamental para lograr un estilo de vida saludable, pues se ha visto relacionada la práctica de ejercicio físico moderado con un mejoramiento de la calidad de vida (Segura, 2003; Roberts, 2002). Sin embargo, existen estudios que demuestran que la práctica repetitiva y exhaustiva del ejercicio físico, aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (Davies, *et al.*, 1982), lo que podría desencadenar en un daño oxidativo en el tejido muscular, hígado, sangre y posiblemente otras estructuras (Kabasakalis *et al.*, 2011).

Según la Federación Internacional de Natación (FINA), el programa Masters promoverá la aptitud, la amistad, la comprensión y la competencia a través de la natación, entre los competidores con una edad mínima de 25 años (Fina.org, 2016"). En esta categoría se pueden encontrar tanto a personas que fueron nadadores de alto rendimiento como a adultos que realizan natación por salud. Debe considerarse que durante la etapa adulta adicionalmente pueden sumarse otros factores pro-oxidantes como el envejecimiento metabólico, el estrés mental, el exceso de grasa corporal, entre otros, que pudieran contribuir al deterioro de la función celular y propiciar el desarrollo de estrés oxidante (Rodríguez &, 1999; Braun, *et al.*, 2016).

Algunos estudios han relacionado el incremento de tejido adiposo con un aumento de indicadores del estrés oxidativo (Mi y Pm, 2003; Amaya-Villalva *et al.*, 2015). De tal forma que las personas con porcentaje elevado de grasa corporal y que

se someten a largas y repetidas sesiones de entrenamiento pueden estar expuestas a una gran cantidad especies reactivas de oxígeno, generadas tanto por el entrenamiento y la lipotoxicidad que la acumulación de tejido adiposo puede causar, teniendo como resultado un estado de estrés oxidativo. Según Sies (1986) podemos definir al estrés oxidativo como, *“Una alteración del balance entre los agentes oxidantes y antioxidantes de la célula, a favor de los primeros”*.

En los últimos años el tema de los antioxidantes ha tomado mayor relevancia dentro del ámbito deportivo, y se han realizado diferentes investigaciones donde se estudia el efecto que tienen algunos alimentos ricos en antioxidantes sobre el desempeño deportivo y la salud de los deportistas (Clifford *et al.*, 2016; Myburgh, 2014; Phillip *et al.*, 2014). Uno de ellos es el betabel, un tubérculo rico en betalainas, betacianinas, betaxantinas, betainas entre otros compuestos antioxidantes (Escribano, *et al.*, 1998). Se ha demostrado que el consumo de jugo de betabel podría reducir los niveles de presión arterial, atenuar la inflamación, promover una adecuada función endotelial y disminuir los síntomas del daño muscular inducido por el ejercicio (Clifford *et al.*, 2016; Clifford *et al.*, 2015). Sin embargo son pocos los estudios que se han realizado con el objetivo de evaluar el efecto del consumo del jugo de betabel y su efecto sobre algunos parámetros de estrés oxidativo en personas (Clifford *et al.*, 2016).

Por lo anteriormente mencionado es importante la implementación de estrategias nutricionales que además de cubrir las necesidades energéticas de este grupo de atletas, promuevan el consumo de alimentos ricos en antioxidantes, propiciando la reducción de estos radicales libres y también, concientizar a los nadadores sobre la importancia de una adecuada alimentación, el consumo regular de alimentos ricos en antioxidantes y los efectos que esto podría tener en su salud y su desempeño.

IV. JUSTIFICACIÓN

Durante la práctica constante y extenuante del ejercicio, existen adaptaciones fisiológicas que ayudan a mantener la salud y mejorar el rendimiento deportivo. Dentro de estas adaptaciones se encuentran la mejora en la respuesta en los mecanismos de defensa antioxidantes endógenos, los cuales pueden ser influidos por la intensidad del entrenamiento y el estilo de vida que los deportistas tengan. En este ámbito la alimentación tiene un papel fundamental, pues de no aportar las cantidades de agentes antioxidantes adecuadas, esto podría ser un factor de riesgo para que estos nadadores estén expuestos a un estado de estrés oxidante. No obstante en períodos de elevada intensidad o exposición a esfuerzo físico la respuesta endógena no siempre es suficiente para recuperar al organismo de la agresión inducida, por lo que es fundamental proporcionar un apoyo exógeno mediante estrategias nutricionales (Braun *et al.*, 2016). De lo contrario el estrés oxidativo inducido por ejercicio podría ser una causa de daño a nivel de la membrana celular, lo que conduce a una exacerbada respuesta inflamatoria y por consecuencia al padecimiento de dolor y fatiga muscular posterior al ejercicio (Clifford, *et al.*, 2016; Fernández, *et al.*, 2008). Si la situación inflamatoria no se atenúa hay fallas en la recuperación y adaptación a las sesiones de entrenamiento así como un ambiente pro-oxidante que pudiera generar riesgos a la salud del nadador (Balakrishnan y Anuradha, 1998).

Escasa evidencia científica (Clifford *et al.*, 2016) se ha realizado para evaluar el efecto que tiene el consumo del jugo de betabel sobre el estrés oxidativo ocasionado por el ejercicio y el entrenamiento, así mismo existen estudios que demuestran que los niveles de estrés oxidativo se ven mayormente aumentados en las personas de mayor edad (Braun, *et al.*, 2016). Por lo que al realizar esta investigación se aportara información científica útil para la elaboración de estrategias nutricionales para nadadores masters y de otras disciplinas.

Así también, con la obtención positiva de los resultados, se podría considerar al betabel como un alimento funcional para deportistas, pues en múltiples investigaciones se ha comprobado que disminuye el consumo de oxígeno en

actividades leves a moderadas, aumenta el umbral anaeróbico, retrasa la aparición de fatiga, disminuye el costo de producción de ATP y atenúa los síntomas de dolor muscular tardío inducido por el ejercicio (Ormsbee *et al.*, 2013; Pinna *et al.*, 2014; Cermak, *et al.*, 2012; Lansley *et al.*, 2011); al evaluar su efecto sobre el estrés oxidativo se daría a conocer una nueva perspectiva de este alimento.

Como se mencionó anteriormente este grupo de nadadores está expuesto principalmente al estrés oxidativo producido por el ejercicio. De esta manera, el betabel se convertiría en una excelente opción natural, como un alimento funcional que además de favorecer el rendimiento deportivo, ofrece un efecto protector contra el estrés oxidativo.

V. HIPÓTESIS

El consumo de jugo de betabel aumenta el rendimiento de nadadores masters durante una etapa con estímulos de resistencia láctica, debido a la normalización del estrés oxidativo (GSH).

VI. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Evaluar el efecto del consumo de jugo de betabel sobre estrés oxidativo y el rendimiento de nadadores masters durante una etapa de resistencia láctica.

6.2 Objetivos específicos

- Determinar compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del jugo de betabel administrado a los participantes.
- Realizar valoración nutricional integral de los participantes para su posterior aleatorización en grupos de tratamiento.

- Evaluar el efecto del consumo de jugo de betabel en el rendimiento (Test de rendimiento 6x50 1"30) y marcadores de estrés oxidativo (GSH) durante una etapa de resistencia láctica.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Material Vegetal

Para determinar los compuestos bioactivos del jugo del betabel, se guardaron alícuotas de 1.5 ml del jugo administrado diariamente a los participantes. Se utilizó el betabel de especie *Beta Vulgaris L* que se compró diariamente en mercados locales. Se compraron tubérculos frescos en un estado de maduración para su consumo. Los vegetales fueron lavados, almacenados y posteriormente pelados para cortarlos en pedazos pequeños. Para la obtención del jugo de betabel, se extrajo de una manera casera con un extractor de jugos marca Turmix Standard (México). Posteriormente del jugo extraído, fue filtrado con un colador de acero inoxidable para poder separar la fibra del jugo. Seguido de esto, 1.5 ml del jugo extraído diariamente fue almacenado en tubos eppendorf protegidos de la luz a -20° para su posterior análisis. Posteriormente, se determinó el contenido de betalaínas, fenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante por el método de DPPH y ABTS.

7.1.1. Determinaciones en el jugo de betabel

7.1.2. Determinación de betalaínas

El contenido de betalaínas (betaacianinas y betaxantinas) se realizó por un método colorimétrico descrito por (Nilsson, 1970) y (Mobhammer *et al.*, 2006) con algunas modificaciones (Kathiravan *et al.*, 2014). El jugo fue diluido 30 veces con agua desionizada y la absorbancia del jugo diluido fue leída a 538 y 480 nm usando un espectrofotómetro para microplacas (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO). El contenido de betalaínas fue calculado usando una ecuación propuesta por (Castellanos y Yahia, 2008). Las betacianinas y betaxantinas evaluadas como equivalentes de betanina e indixantina, respectivamente. El contenido de betacianinas fue calculado de la siguiente manera:

$$\text{Betacianina (mg/l)} = A \cdot FD \cdot P_M / \epsilon \cdot L$$

Donde A es el valor de la absorción de la betanina λ max (538 nm) corregido por la absorción a 700 nm, FD es el factor de dilución, P_M es el peso molecular de la betanina (550 g mol⁻¹), ϵ representa el coeficiente molar de extinción de la betanina (60,000 L mol⁻¹ cm⁻¹) y L es la longitud (1 cm) de la celda. El contenido de betaxantinas fue determinado de la siguiente manera:

$$\text{Betaxantina (mg/l)} = A \cdot \text{FD} \cdot P_M / \epsilon \cdot L$$

Donde A es el valor de la absorbancia de la indicaxantina λ max (480 nm) corregido por la absorción a 700 nm, P_M es el peso molecular de la indicaxantina (308 g mol⁻¹), ϵ representa el coeficiente molar de extinción de la indicaxantina (48,000 L mol⁻¹ cm⁻¹).

7.1.3. Capacidad antioxidante en jugo de betabel

Los análisis se realizaron para la caracterización del jugo de betabel en diferentes periodos de almacenamiento, para determinar su estabilidad de almacenamiento.

7.1.4. Determinación de la capacidad antioxidante por ABTS^{•+}

El ensayo de la decoloración del radical catiónico ABTS^{•+} (2,2'-azino-bis- (3- etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) tiene su fundamento en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{•+} (Re *et al.*, 1999). Tal decoloración es debida a la interacción con especies capaces de donar hidrógenos o electrones. El radical catiónico ABTS^{•+}. Es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y es generado por la oxidación del ABTS^{•+} con el persulfato de potasio. Este ensayo de capacidad antioxidante se determinó mediante el método descrito por Van Der Berg *et al.*, (1999) y se expresó en IC50 o capacidad inhibitoria media. La técnica consiste en mezclar 5 mL del radical ABTS (7nM) y 88 μ L de persulfato de potasio (140mM). La solución se almacenó en refrigeración y protegió de la luz 12 horas para su uso posterior. Se tomaron 500 μ L de la solución concentrada de ABTS y se agregaran de 15 – 20 mL de etanol para obtener una absorbancia de la dilución de 0.8 +- 0.2 a una

longitud de onda de 734 nm. Las lecturas se realizaron en un lector de microplaca modelo SpectraMax PLUS 384 (Molecular Devices, Maryland, USA). Se incluyó como blanco 230 uL de agua destilada y de las muestras se tomaron 230 uL de ABTS + 20 uL de la muestra. La absorbancia se va a medir a 734 nm inmediatamente al minuto 0 y al minuto 6 se midió nuevamente.

7.1.5. Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH

El método está basado en que el radical DPPH* (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo) de color azul-violeta, tiene un electrón desapareado, volviéndose a amarillo-pálido por la interacción con alguna sustancia antioxidante, causando una disminución en la absorbancia medida a 515 nm (Kedare & Singh, 2011). La actividad antioxidante fue determinada usando el radical libre DPPH de acuerdo a Brand-Williams y col. (1995). Se realizaron ajustes de diseño a microplaca. Se colocarán 20 µL de muestra y se le añadieron 230 µL de la solución de DPPH (150µM). Se agitaron las mezclas y se dejaron en oscuridad por media hora a temperatura ambiente. Pasado este tiempo se realizó la lectura por espectrofotometría (Varioskan™ LUX multimode microplate reader, Therm Fhiser, Finlandia) a 515 nm contra un blanco. Se elaborará una curva estándar de Trolox® ($y=0.1137x - 2.151$, $R^2=0.995$). La actividad anti radical se expresó como porcentaje de inhibición, lo cual corresponde al porcentaje del radical DPPH neutralizado por la muestra a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación. Los resultados se expresaron como µmol equivalentes de Trolox® (ET):

$$\%Actividad\ antioxidante(ARA) = \left(1 - \left(\frac{absorbancia\ de\ muestra}{absorbancia\ del\ control} \right) \right) \times 100$$

7.1.6. Cuantificación espectrofotométrica de fenoles totales

El ensayo Folin-Ciocalteu es utilizado para cuantificar el contenido de compuestos fenólicos totales en productos de origen vegetal. Su fundamento es que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo Folin-Ciocalteu, a un pH básico, resultando en una coloración azul, la cual puede ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm (Avella, García, & Cisneros, 2008). El contenido

total de compuestos fenólicos fue determinado usando el método anteriormente mencionado, según lo descrito por (Singleton y Rossi, 1965; (Avella *et al.*, 2008). La técnica se reprodujo en diseño para microplaca. Se tomaron 12.5 μL de muestra y se mezclaron con 31.25 μL de reactivo de Folin 1N, dejándose en reposo durante 5 min protegido de la luz. Posteriormente se adicionaron 156 μL de Na_2CO_3 al 20% y 50 μL de agua destilada. La mezcla se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 765 nm por espectrofotometría (Varioskan™ LUX multimode microplate reader, Therm Fhiser, Finlandia). El contenido fenólico total se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de muestra, de acuerdo con la curva de calibración.

7.1.7. Cuantificación espectrofotométrica de flavonoides totales

El método de análisis para flavonoides se basa en una evaluación espectrofotométrica de un complejo formado con cloruro de aluminio tras la hidrólisis ácida de los glucósidos. La cantidad de flavonoides se cuantificó de acuerdo al método colorimétrico descrito por Liu *et al.*, (2002) ajustado a un diseño para microplaca. A 31.25 μL de muestra se le adicionaron 156 μL de agua destilada, 9.4 μL de NaNO_2 al 5%. La mezcla se dejó reposar durante 6 minutos, posteriormente se adicionaron 18.8 μL de $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ al 10%, se dejó en reposo durante 5 min y después se adicionaron 62.5 μL de NaOH 1M. Por último se agregó 30 μL de agua destilada, la mezcla se homogenizó completamente y se leyó por espectrofotometría (Varioskan™ LUX multimode microplate reader, Therm Fhiser, Finlandia) a 510 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de (+)-catequina (EC) por gramo de muestra de acuerdo a la curva estándar.

7.1.8. Cuantificación de nitratos en el jugo de betabel

La cuantificación de nitratos en el jugo se realizó diluyendo el jugo 500 veces y se realizó de manera similar a la determinación de nitratos en suero, como se describe más abajo.

7.2 Diseño de investigación

Esta investigación es de tipo experimental, aleatorio-cruzado.

7.2.1. Grupo de estudio

En este estudio participaron voluntariamente 13 nadadores ambos sexos fueron incluidos, con una edad de 45.8 ± 10.2 años, pertenecientes al equipo Master de la Unidad Deportiva, Parque Querétaro 2000. Los participantes fueron asignados de manera aleatoria en un grupo suplementado con jugo de betabel (JB) o un grupo control usando sólo agua (CA).

7.2.2. Criterios de exclusión

Fueron excluidos aquellos sujetos con enfermedades crónicas degenerativas, los sujetos fumadores, aquellos que consumían suplementos de vitaminas o minerales o algún otro suplemento antioxidante.

7.2.3. Criterios de eliminación

Fueron eliminados los individuos que una vez iniciado el estudio presentaron alguna complicación de salud debido a alguna enfermedad; que presentaron algún efecto secundario al jugo de betabel; decidieron voluntariamente abandonar el estudio.

7.2.4 Protocolo de experimentación

Consentimiento informado. A todos los participantes se les pidió que asistieran a una junta una semana antes de que el estudio comenzara, donde se les proporcionó información acerca del protocolo de estudio, se les entregó el consentimiento informado para que dieran su autorización para participar por escrito. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (39FCN2017). También se les dieron

instrucciones de las condiciones en que deberían presentarse a las diferentes sesiones de evaluación nutricional y de entrenamiento.

Evaluación nutricional. Los participantes asistieron a una primera evaluación en la clínica de nutrición de la Facultad de Ciencias Naturales, en condiciones de ayuno de por lo menos 8 horas para una evaluación nutricional integral, donde fueron evaluados parámetros antropométricos, clínicos, dietéticos y de actividad física.

Test 4x100'5. En la segunda sesión, se realizó un el *Test 4x100'5* el cual consistió en nadar en cuatro ocasiones 100 metros a la velocidad máxima posible, saliendo cada cinco minutos desde adentro de la alberca, en estilo libre. Se les pidió a los participantes que se abstuvieran de realizar ejercicio físico extenuante y consumir alcohol durante las 48 horas previas, que se presentaran en condiciones de descanso y consumieran un desayuno estandarizado. En esta sesión se determinaron capacidades físicas de entrenamiento basadas en la determinación de la frecuencia cardíaca máxima mediante una prueba de nado en estilo libre de 4x100m. La frecuencia cardíaca fue monitoreada en reposo y al final de cada 100m. También se determinaron las concentraciones de lactato al inicio (antes del calentamiento) y al final del test. En una tercera sesión los sujetos se presentaron en la alberca para realizar el test de rendimiento 6x50m.

Test de Rendimiento 6x50m. El test consistió en nadar 50 m en 6 ocasiones en estilo libre a la máxima velocidad posible, saliendo (desde adentro de la alberca) cada 1.5 min; Antes de iniciar el test los nadadores realizaron una sesión de calentamiento. Este test fue aplicado al iniciar y al finalizar el periodo de suplementación en cuatro ocasiones diferentes en total. Para asegurar que los sujetos estaban nadando en una zona predominante anaeróbica se evaluaron, las concentraciones de lactato antes de iniciar y al finalizar el test. La frecuencia cardíaca y el esfuerzo percibido fueron monitoreados al terminar cada repetición a lo largo del test.

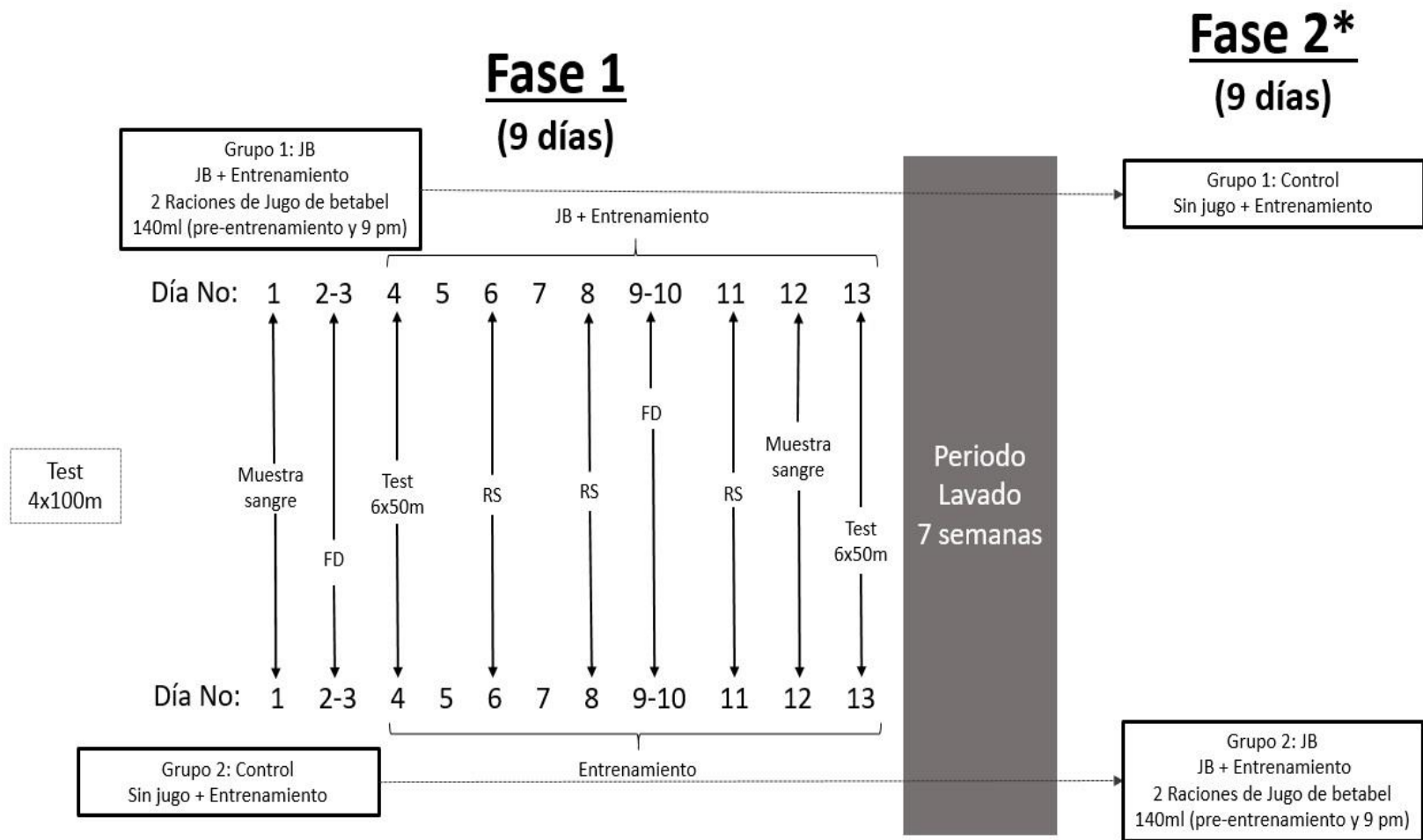
Determinación de lactato. Justo antes del calentamiento e inmediatamente después de que el test finalizara, se tomó una muestra de sangre mediante una punción dactilar, en el dedo índice para la determinación de las concentraciones de lactato sanguíneo usando un analizador Lactate Plus Meter Nova Biomedical.

Esfuerzo percibido: Se determinó la percepción subjetiva del esfuerzo (RPE) a través de la escala de Borg de 10 puntos con un rango desde 0 puntos “reposo” a 10 puntos “extremadamente máximo” (Borg, 1982). Justo al finalizar cada repetición del test 4x100'5 y el test 6x50m los nadadores debían indicar el esfuerzo que habían percibido en dicha repetición señalando un número de una hoja que contenía dicha escala.

Estímulos de resistencia láctica. Esta etapa tuvo una duración de una semana y media, en el cual se aplicaron cargas de trabajo a los nadadores diseñadas para alcanzar una frecuencia cardíaca en un rango de trabajo del 80–90% de su frecuencia cardíaca máxima, los estímulos de resistencia láctica se dieron cada 72 horas, mientras que los días restantes las sesiones regenerativas, con el objetivo de evitar el sobre entrenamiento. Las sesiones de entrenamientos fueron de 50 min aproximadamente cada una.

Frecuencia cardíaca máxima. La frecuencia cardíaca fue monitoreada en reposo e inmediatamente después de cada repetición por medio del pulsómetro POLAR FT1.

Presión sanguínea. Esta medición se realizó bajo la siguientes condiciones, sin haber realizado ejercicio físico, sentado con la espalda y brazos apoyados, piernas



JB (Jugo de betabel); FD (fin de semana-descanso); RS (sesiones de resistencia láctica). *En la fase 2, se repitió el mismo protocolo que en la fase 1, pero con los grupos invertidos.

Figura 4 Representación esquemática del diseño experimentación

sin cruzar. Con un baumanometro digital OMRON, modelo HEM-7320 (OMRON HEALTHCARE, INC. USA), siempre en el mismo brazo (izquierdo).

Tratamientos. Una vez llevada a cabo la evaluación de los participantes, y habiendo acreditado los criterios de inclusión, éstos fueron asignados de manera aleatoria en un grupo suplementado con jugo de betabel o un grupo control (usando sólo agua). Al iniciar la etapa de entrenamiento láctida, se instruyó a los participantes que consumieran 140 ml de jugo (JB) o agua (CA) 60 minutos antes del entrenamiento y otra porción de 140 mL de JB o CA a las 21:00 horas. El jugo fue preparado diariamente usando un extractor de jugos comercial (Marca túrmix) y posteriormente almacenado en vasos de cartón laminado de polietileno grado alimenticio de 12 oz, tapados con una película plástica transparente y una tapa térmica de plástico. El agua consumida fue agua embotellada sin sabor ni edulcorantes.

Control de la dieta. Se les pidió a los participantes que se abstuvieran de consumir alimentos ricos en cafeína (café o té) u otros suplementos estimulantes con efecto ergogénico, así como también que restringieran el consumo de alimentos ricos en antioxidantes (zarzamoras, arándanos frescos, bayas, fresas, uvas, jugo de naranja, té verde) y nitratos (espinaca, acelgas, lechuga, perejil y apio). Para asegurar que los nadadores no cambiaran sus hábitos de alimentación durante el estudio y consumieran el jugo de betabel cuando estaban en la fase de suplementación, se les pidió que contestaran cuestionarios de alimentación por lo que completaron 3 recordatorios de 24 h (2 de entre semana y 1 de fin de semana) durante cada fase de suplementación. A los sujetos se les enseñó como contestar estos recordatorios previamente. Todos los participantes fueron advertidos sobre los posibles efectos secundarios del jugo de betabel: molestias gastrointestinales, la apariencia roja de orina y heces.

7.3 Material antropométrico

Para determinar el peso corporal y estimar la composición corporal de los participantes se empleó una báscula digital marca SECA®, modelo mBCA 514. A los

sujetos se les solicitó que se presentaran en ayuno; la medición se realizó de acuerdo a las especificaciones establecidas por el fabricante.

Estatura: se empleó un estadímetro de pared con transmisión inalámbrica marca seca®, modelo seca 274, situando al individuo en el plano de Frankfurt.

Circunferencias: Las circunferencias de cintura y cadera fueron determinadas utilizando una cinta métrica metálica de acuerdo a las especificaciones de la OMS. Todas las mediciones antropométricas fueron realizadas por una misma persona, la cual estaba estandarizada.

7.4. Material químico

7.4.1 Determinaciones de bioquímicas

Para realizar las determinaciones bioquímicas, dos muestras de sangre total fueron tomadas en tubos de plástico BD Vacutainer Plus. Para poder realizar la biometría hemática y obtener el plasma para el análisis de glutatión se utilizó un tubo de 7.2 mL con EDTAK₂ como coagulante (tubo con tapa lila). Un tubo Vacutainer SST II de 5.0 mL con gel separador (tubo con tapa dorada), fue utilizado para la obtención de suero y los análisis de la química sanguínea de cada participante.

Una vez obtenida la muestra de sangre se realizó una biometría hemática en un equipo Cel-dyn 1400 (Abbot, U. S. A.). Para el cual se utilizaron 50 µL de muestra (sangre total) y se calcularon diferentes indicadores hemáticos.

Seguido de esto, para la obtención del plasma, la sangre total fue centrifugada a 3,000 rpm durante 10 min y se elaboraron alícuotas de plasma o suero en tupos eppendorf de 1.5 mL, posteriormente fueron etiquetados y almacenados a -70°C en un ultracongelador (REVCO, Thermo Cientific) para su posterior análisis.

En el suero, se llevó a cabo un análisis de química sanguínea de 11 elementos, que incluía: albumina, colesterol, HDL-DIR, creatinina, proteínas totales, triglicéridos, LDL (fried wald), glucosa, globulinas, albumina/globulina y LDL. Todas las anteriores determinaciones bioquímicas se realizaron por duplicado en un equipo automatizado Mindray BS 120 (Medical International Limited, China). Para cada análisis se utilizaron controles de suero normal y anormal. Fue utilizado un multicalibrador Spintrol (Spinreact S. A./S. A. U., Girona, España) para asegurar la certeza de las determinaciones realizadas. Estos análisis fueron realizados en el laboratorio de Nutrición Humana de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro.

Determinación de glucosa. La glucosa sanguínea se determinó en suero sanguíneo mediante un método enzimático colorimétrico (Spinreact S.A/S.A.U. Girona, España).

Determinación del perfil de lípidos. Se analizaron mediante métodos colorimétricos enzimáticos directos de punto final de la marca SPINREACT (SPINREACT S.A./S.A.U., Girona, España). Para la determinación de triglicéridos el ensayo enzimático con glicerol fosfato deshidrogenasa/peroxidasa (catalogo #41034). Las concentraciones de colesterol total fueron determinadas mediante el método enzimático de colesterol esterasa/colesterol/oxidasa/peroxidasa (catalogo #41019), mientras que el colesterol-HDL se determinó mediante la reacción con colesterol esterasa/colesterol oxidasa/catalasa (catalogo #101096).

7.4.2. Determinaciones de la concentración de Glutación reducido

La concentración de GSH se determinó por el método de Ellman (1985), basado en la habilidad del grupo SH para reducir ácido 5,5' – ditiobis dinitro benzoico (DTNB) a ácido 5-thio-2-nitrobenzoico (TNB). Para este experimento se utilizaron los siguientes reactivos: solución amortiguadora Tris/EDTA a un pH de 8.2, una solución madre de DTNB 2.46 mM, solución madre de GSH 0.6 mM (que se utilizó para realizar la curva estándar), SSA al 5% y metanol. A continuación se presenta el proceso con el cual ejecuto la determinación de GSH.

Curva estándar de GSH. La curva estándar se realizó a partir de la solución madre de GSH (0.6 mM), la cual se preparó pesando 1.843 mg de GSH y se disolvió con 10 mL de solución amortiguadora Tris/EDTA. Para la solución madre de DTNB (2.46 mM) se pesaron 24.3 mg y se disolvieron en 25 mL de metanol. En el Cuadro 2 se muestran las soluciones y el volumen que se añadió de que cada una para realizar la curva estándar. Finalmente, las muestras se dejaron reposar durante 5 minutos y se leyeron a 412 nm en un lector de microplacas modelo Versa Max Tunable Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

Tabla 2 Orden de adición de reactivos para realizar la curva estándar de GSH

Solución amortiguadora tris/EDTA (µL)	Solución madre de GSH (µL)	Metanol (µL)	DTNB (µL)	Concentración final de GSH (µM)
150	0	130	20	0
150	2	128	20	4
150	4	126	20	8
150	6	124	20	12
150	8	122	20	16
150	10	120	20	20
150	12	118	20	24
150	14	116	20	28
150	16	114	20	32

Determinación espectrofotométrica en muestras. Una vez precipitadas las proteínas de las muestras, se realizó una determinación espectrofotométrica. En el Cuadro 3 se muestra la cantidad y el orden en el cual se agregaron los reactivos en la microplaca. Posteriormente, se dejó reposar durante 5 minutos y se leyó a 412 nm en un lector de microplacas modelo Versa Max Tunable Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

Cuadro 3. Orden de adición de reactivos para la determinación de GSH

Reactivo	Volumen (µL)
-----------------	---------------------

Solución amortiguadora tris/EDTA	150
Muestra (sobrenadante)	50
Metanol	80
DTNB	20

La concentración de GSH en las muestras se determinó extrapolando la absorbancia de las muestras en la curva de calibración realizada previamente y los resultados se expresan en μM .

7.4.3. Determinación de nitratos y nitritos en suero

La determinación de nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-) se realizó utilizando un método para la evaluación simultánea de las concentraciones de nitrato y nitrito en un formato de placa de microtitulación, propuesto por Miranda, Espey & Wink (2001), con algunas modificaciones. El principio de este ensayo es la reducción de nitrato por vanadio III (VCl_3) combinado con la detección por la reacción ácida del reactivo de Griess. Los experimentos fueron llevados a cabo a temperatura ambiente. Se utilizó el suero de los participantes, al cual inicialmente se le precipitaron las proteínas de la siguiente manera, en un tubo eppendorf de 1.5 mL. Se utilizó una dilución 1:3 (1 volumen de suero y 2 volúmenes de metanol), para posteriormente mezclarlos vigorosamente utilizando un agitador vortex, las muestras fueron centrifugadas a 1000g por 15 minutos. El sobrenadante fue pasado a un nuevo tubo eppendorf y seguido de esto se realizaron las determinaciones que a continuación se describen.

Nitratos. Una solución estándar de nitrato (10 mM) fue diluida de 10 – 640 μM , y se realizó una curva estándar por triplicado en una placa de 96 pocillos. El medio diluyente (agua desionizada), fue utilizado como blanco estándar. Después de depositar las muestras en la placa (100 μl), se siguió por la adición de VCl_3 (100 μl) y a cada muestra se le agregó enseguida el reactivo de Griess -sulfanilamida (SULF) (50 μl) y N-(1-naftil)-etilendiaminaNEDD (50 μl)-.

Nitritos. Las concentraciones de nitrito fueron medidas de una manera similar a excepción que las muestras y los estándares de nitrito fueron expuestos únicamente al agente de Griess (sin adicionar VCl_3). La curva estándar para determinar nitritos fue de 1 a 64 μM . Posteriormente y para ambos casos, las muestras se incubaron durante 45 minutos y para la medición se utilizó una absorbancia de 540 nm con un lector de microplacas modelo Spectramax 250 Microplate Reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, EUA).

7.5. Análisis Estadístico

Los datos descriptivos de la población son presentados como la media \pm la desviación estándar. Un test de T-Student para muestras relacionadas fue utilizado para comparar los marcadores de estrés oxidativo y el test de rendimiento antes y después de la intervención con el jugo de betabel. Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 23 para Windows.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Contenido de fenoles totales en jugo de betabel.

El contenido de fenoles totales (FT) en el jugo de betabel fue de 37.71 mg EAG/ml. Los datos obtenidos en el jugo administrado fueron más altos en comparación con los reportados por Guldiken *et al.* (2016), quienes encontraron un contenido de FT de 225 ± 15 mg EAG/100 ml de jugo y por los reportados por Kuajala *et al.*, (2000) quienes reportaron 15.5 EAG/g en muestras frescas de betabel. Debido a que el ensayo de Folin-Ciocalteu no es específico para fenoles, ya que algunos componentes como los azúcares y algunos aminoácidos tienen la capacidad de reducirlo (Robbins *et al.*, 2003), los valores presentados en el jugo de betabel administrado durante el estudio podrían estar sobreestimado (Garcia *et al.*, 2012). Algunos estudios han sugerido que el betabel contiene algunos ácidos fenólicos como el p-cumárico, protocatecuico, ferulico, vanílico, p-hidroxibenzoico y ácido siríngico, sin embargo en este trabajo en este trabajo solo se determinó el

contenido total de fenoles totales, por lo que no fue posible identificar las concentraciones de cada uno de ellos (Vulic *et al.*, 2012; Kujala *et al.*, 2000).

De acuerdo a Kazimierczak *et al.*, (2014) el contenido de fitoquímicos de betabel, puede variar debido a las condiciones a las que fueron sometidos durante su producción y postcosecha. Los compuestos fenólicos totales fueron determinados por el ensayo de Folin-Ciocalteu.

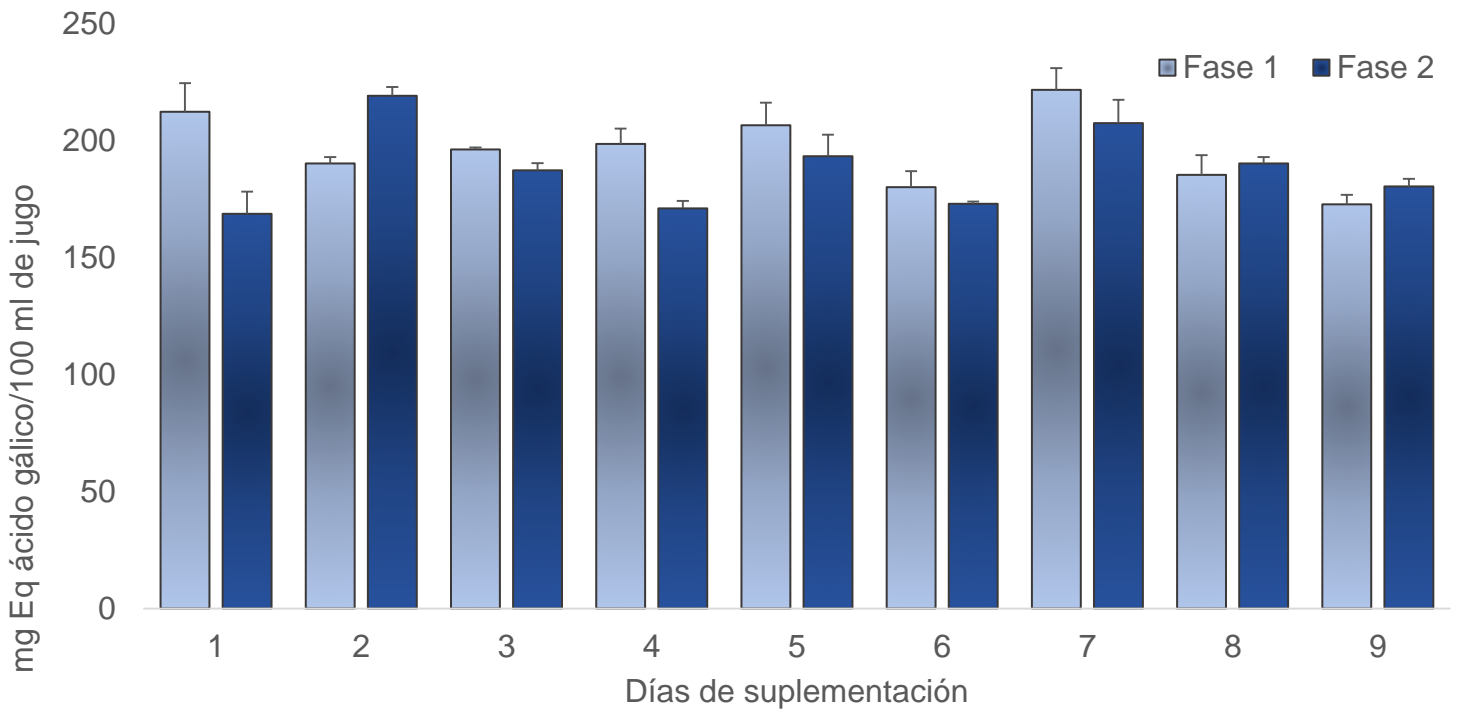


Figura 5 Contenido de fenoles en el jugo de betabel

Los compuestos fenólicos de diferentes vegetales, se han asociado con distintos efectos beneficiosos a la salud. Además en el deporte se han relacionado con disminución del dolor muscular de aparición tardía. Estos forman un grupo de compuestos de gran importancia debido a sus propiedades antioxidantes y sus posibles efectos para disminuir el dolor muscular de aparición tardía además de ayudar en la recuperación después de una sesión de ejercicios de alta intensidad (Candia, De Paz Fernández, y Costa , 2015).

Desde hace varios años atrás, distintos frutos y vegetales han sido estudiados *in vitro* por diferentes autores, esto con el objetivo de determinar su contenido y fenólico y su capacidad antioxidante bajo distintas condiciones de procesamiento y almacenamiento (Kevers et al., 2007). Diferentes estudios han demostrado que el consumo de alimentos con un alto contenido fenólico pueden contribuir a inducir sistemas antioxidantes endógenos (Matthaiou *et al.*, 2014).

8.2 Contenido de flavonoides en jugo de betabel.

El contenido de flavonoides obtenido en el jugo de betabel fue de 5.7 ± 0.78 y 5.5 ± 0.54 mg equivalentes de catequina/ ml de jugo de betabel para la fase 1 y la fase 2 respectivamente (Ver figura 6). De acuerdo a Barreiro y Sandoval, (2006) los flavonoides son susceptibles a experimentar transformaciones en el procesamiento, sobre todo en presencia de oxígeno y ácido ascórbico; igualmente pueden degradarse vía enzimática, esta degradación afecta las pulpas que contienen estos pigmentos, normalmente de color rojizo, durante su almacenamiento a bajas temperaturas o durante su procesamiento.

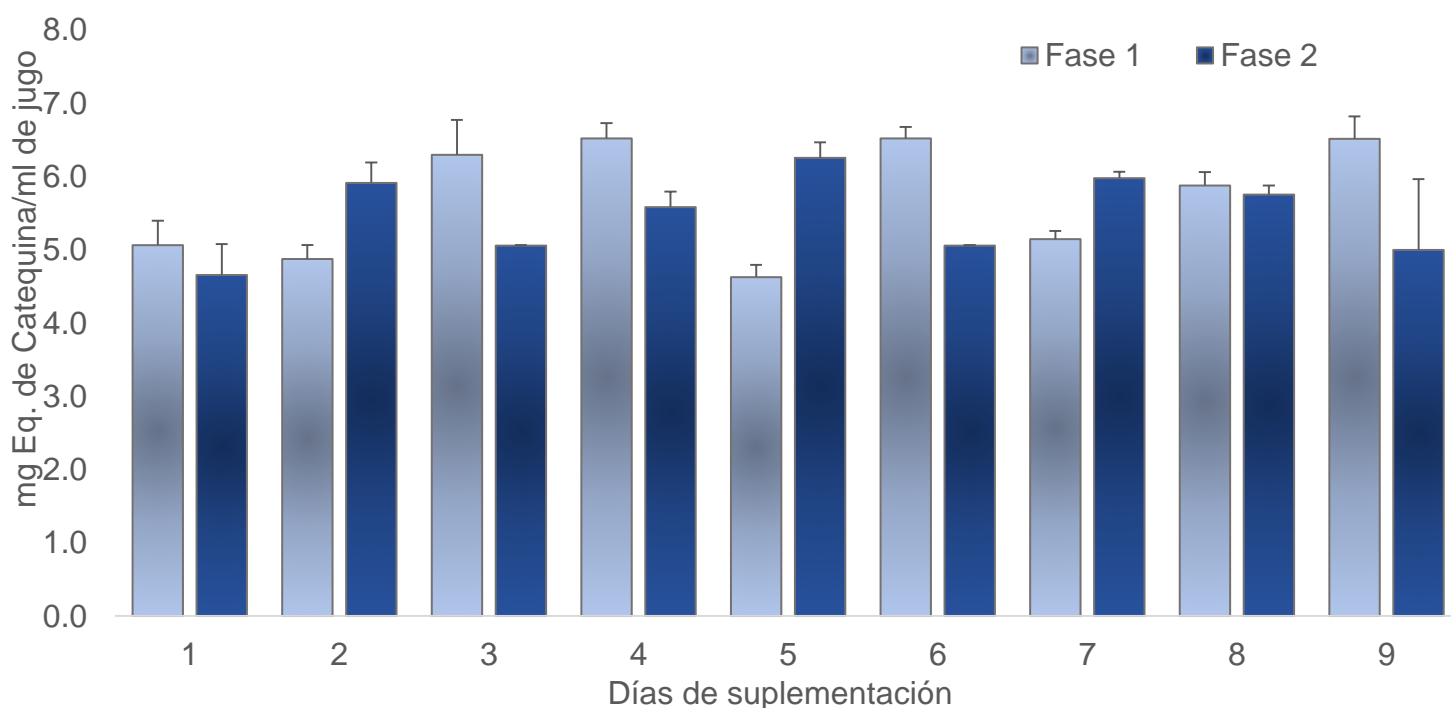


Figura 6 Contenido de flavonoides en el jugo de betabel

Los flavonoides son constituyentes habituales de la dieta humana, los cuales normalmente se encuentran en frutas y verduras y bajo ciertos estudios han demostrado que poseen efectos biológicos importantes Hämäläinen et al., (2007). Algunas flavonoides actúan como inhibidores de enzimas, antioxidantes y se ha reportado que poseen actividades antiinflamatorias Middleton, Kandaswami, y Theoharides, (2000). En algunos estudios como el de Meamarbashi y Rajabi, (2015) se ha demostrado que el consumo de alimentos ricos en flavonoides puede tener un efecto positivo en el rendimiento deportivo, esto debido a la disminución del dolor muscular tardío posterior al ejercicio.

8.3 Contenido de betalaínas en jugo de betabel

El jugo administrado presentó un contenido medio de betalaínas 247.29 ± 3.39 y 1.27 ± 3.06 mg/L de betacianina y betaxantina respectivamente (Ver figura 4 y 5). El contenido de betalaínas en el jugo de betabel puede estar influenciado por factores como las enzimas presentes en su estructura y composición, el pH, la luz, el oxígeno, la actividad del agua, ácido ascórbico y azúcar (Carrillo & Yahia, 2017). Los resultados obtenidos en el presente trabajo son similares a los encontrados por Kathiravan *et al.*, (2014) quienes a pesar de someter el jugo de betabel a un proceso de estabilización, sufrió un proceso de degradación constate durante su almacenamiento.

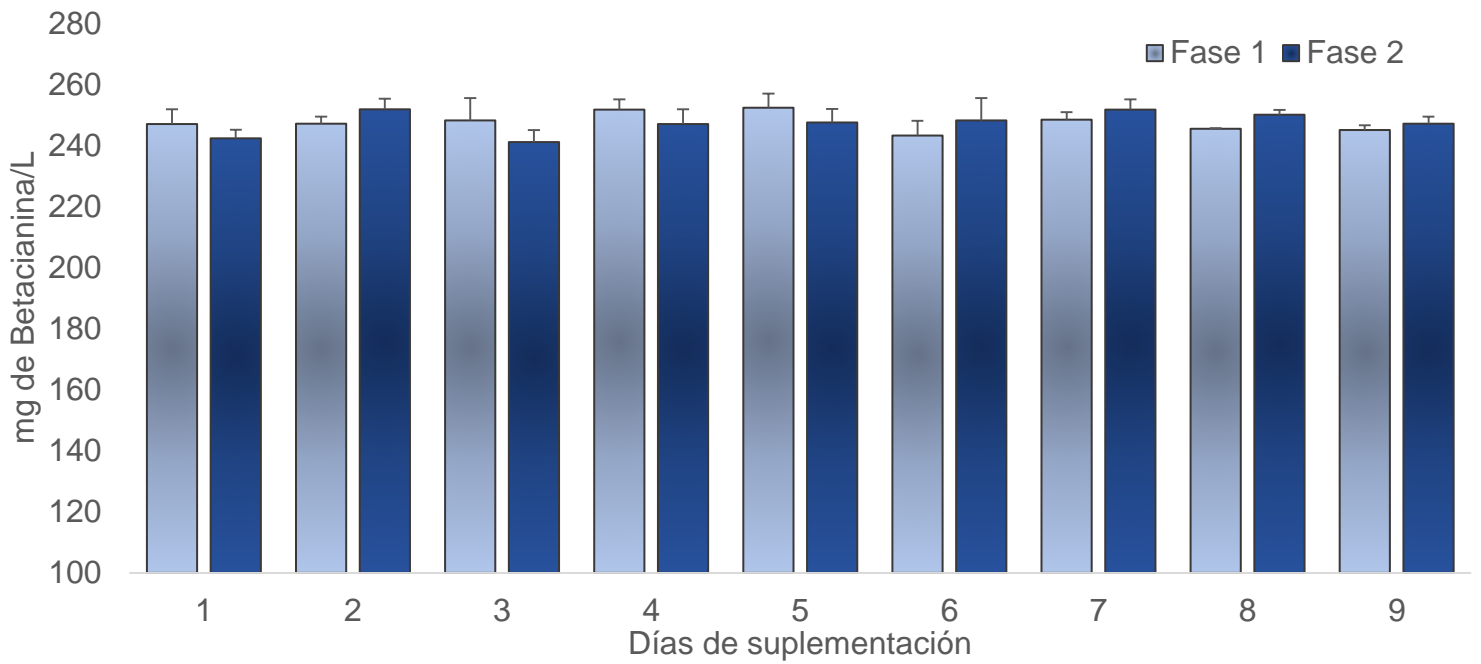


Figura 7 Contenido de betacianinas en el jugo de betabel

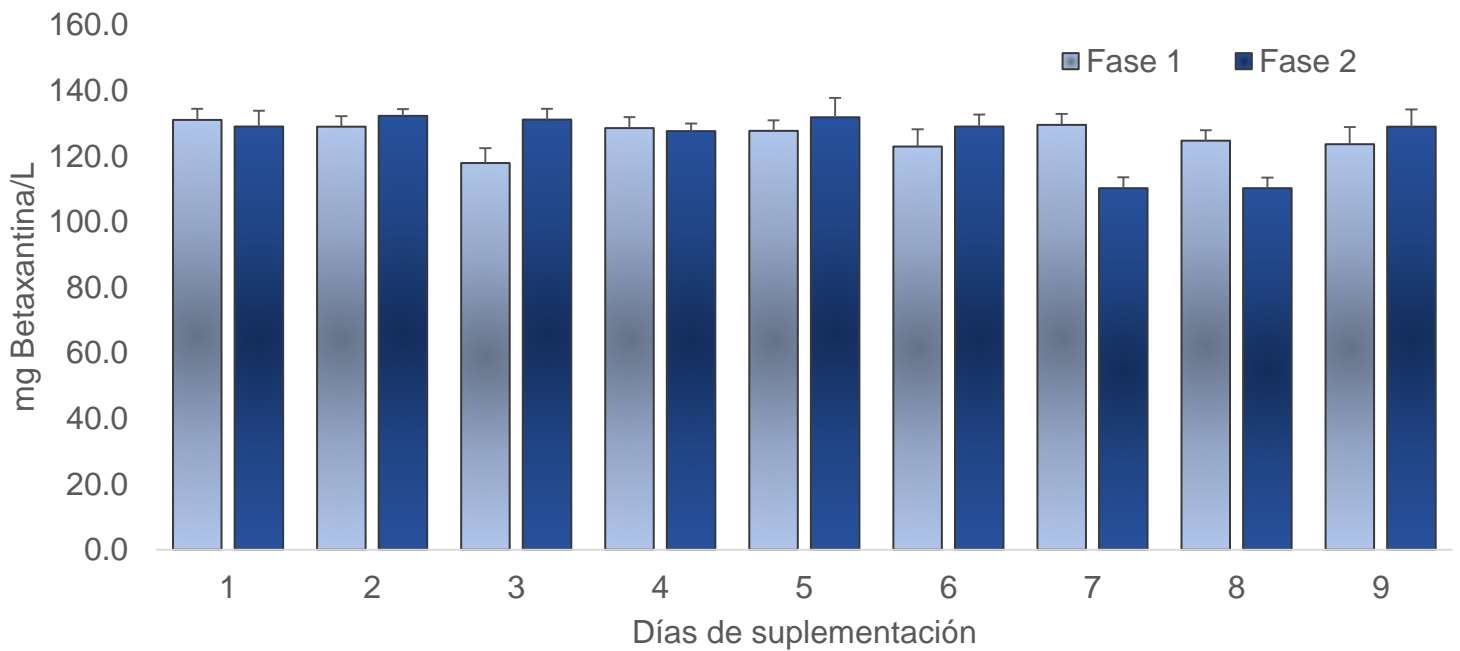


Figura 8 Contenido de betaxantina en el jugo de betabel

8.4 Capacidad Antioxidante Total por DPPH

El betabel es una importante fuente de compuestos antioxidantes. Algunos autores proponen que estos elementos tienen la capacidad para donar electrones, Wootton, Moran, y Ryan, (2011). En esta misma investigación los autores encontraron que dos tipos de jugos de betabel comerciales inhibieron la formación del radical DPPH en un 100.

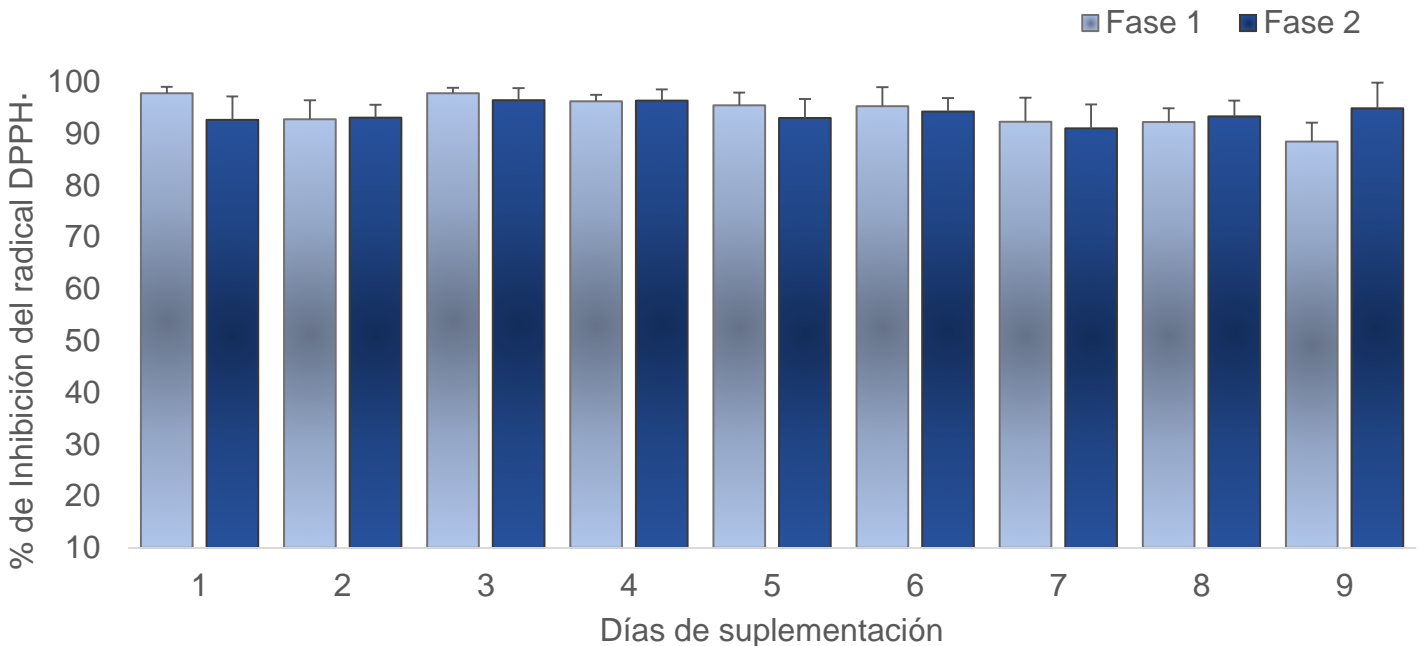


Figura 9 Capacidad antioxidante determinada por DPPH del jugo de betabel

Resultados similares se encontraron en esta investigación, donde el jugo obtenido del vegetal fresco inhibió la formación del radical DPPH en un 95%.

Castro, (2014) menciona que existe una fuerte relación entre la capacidad antioxidante total *in vitro* y el contenido de betalaínas y fenoles totales en el jugo de betabel, pues la concentración de estos fitoquímicos es directamente proporcional a la capacidad antioxidante del betabel. Algunos estudios han reportado que el consumo de alimentos con una alta capacidad antioxidante pueden ayudar atenuar el dolor muscular posterior al ejercicio y mejorar los procesos de recuperación tras sesiones de entrenamiento (Clifford *et al.*, 2015). Sin embargo, a pesar de que en muchos estudios se ha visto que la suplementación con bebidas o alimentos con

gran capacidad antioxidante normaliza los niveles de estrés oxidativo, en muchos casos el rendimiento deportivo no se ha visto mejorado después de una suplementación (Tinkara y Coombes, 2011).

8.5 Capacidad antioxidante por ABTS

Por este ensayo se midió el porcentaje de actividad antioxidante del jugo administrado durante las dos fases de suplementación frente al radical catión ABTS. En la figura 7 se presentan los valores de la actividad antioxidante, como porcentaje de inhibición, por el método de ABTS.

Los porcentajes de actividad antioxidante para el jugo de betabel administrado durante el estudio mediante el ensayo ABTS vario entre un 83% y 91% en una dilución (1:8).

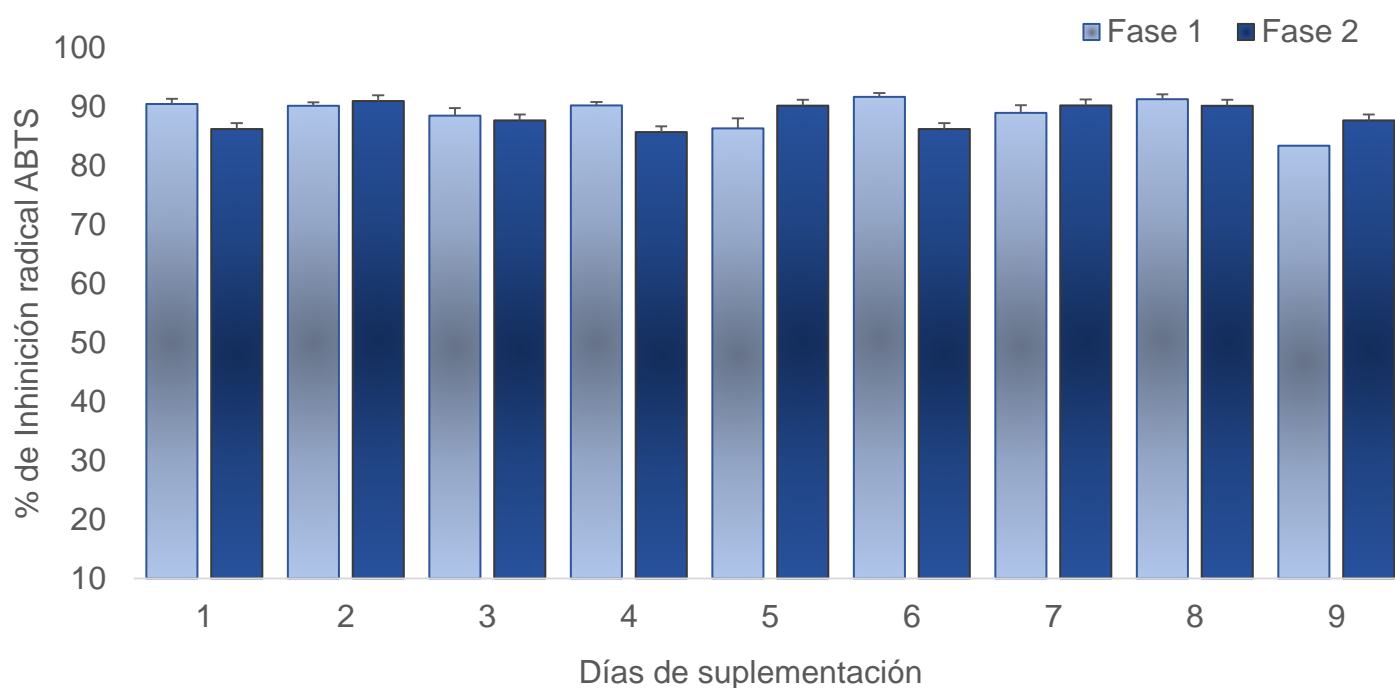


Figura 10 Capacidad antioxidante por ABTS del jugo de betabel

Estos resultados concuerdan con los de Wooton *et al.* (2010), los cuales demostraron que un jugo de betabel (comercial) tenía una gran capacidad antioxidante (92%), y en pruebas de capacidad antioxidante como DPPH y ABTS. Distintos autores han mencionado que la alta capacidad antioxidante del betabel está directamente relacionada con sus compuestos bioactivos como las betalaínas, la vitamina C entre otros elementos que promueven la salud (Castro., 2014).

8.6 Contenido de nitratos en el jugo de betabel

Algunos autores mencionan que es el nitrato, el componente del betabel encargado de tener un efecto ergogénico sobre el rendimiento deportivo (Lansley *et al.*, 2011). El jugo de betabel administrado a los nadadores tuvo una media de 59 ± 3 mM de nitrato /litro.

Estos resultados coinciden con los reportados por el grupo de Wylie *et al.*, 2013. Quienes reportaron concentraciones muy similares. En la figura 8 se muestra la concentración de NO_3^- en el jugo administrado durante las dos fases de suplementación.

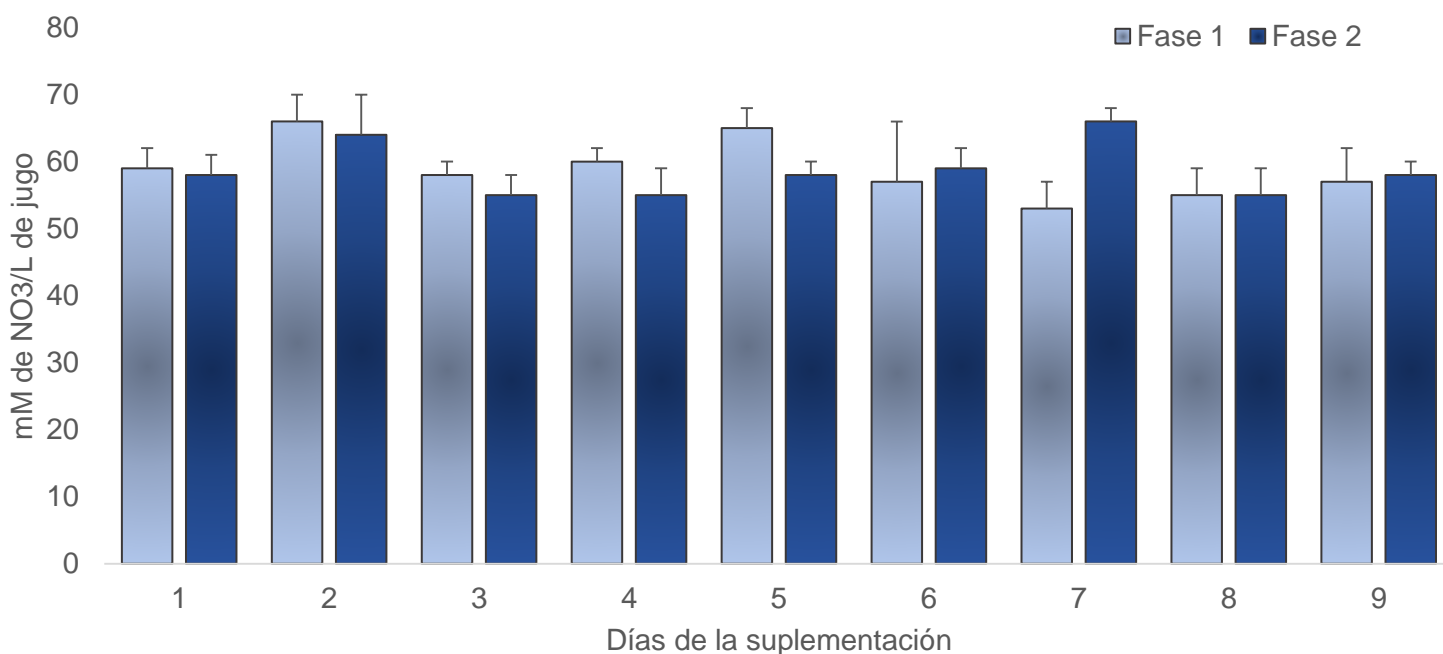


Figura 11 Contenido de nitrato en el jugo de betabel

8.7 Características de los sujetos

Fueron 16 nadadores moderadamente entrenados los que fueron recluidos para esta investigación, sin embargo 3 de ellos decidieron abandonar el estudio debido a asuntos personales. De los 13 nadadores máster que completaron el estudio 8 fueron hombres (62%) y 5 (38%) mujeres. El promedio y la desviación estándar de la edad de los sujetos fue 48 ± 10.15 años, los valores de características como el peso, estatura, % masa grasa y % de masa magra de los participantes se muestran en la tabla 2. Todos los nadadores fueron nadadores master, quienes reportaron participar en competencias regionales y nacionales; además de entrenar de 3 a 5 veces por semana. Cada sesión tiene una duración aproximada de 60 minutos y una distancia recorrida entre 2,500 a 3,000 m.

Tabla 3 Características generales de los nadadores máster participantes en el estudio.

	JB			CA			Valor P
	Media	±	DS	Media	±	DS	
Estatura, m	1.69	±	0.08	1.69	±	0.08	.243
Peso, kg	73.45	±	12.39	73.93	±	14.19	.188
IMC, kg/m ²	25.43	±	3.17	25.22	±	3.12	.233
MLG, %	72.71	±	5.25	72.84	±	4.57	.823
Grasa, %	27.28	±	5.25	27.15	±	4.57	.823

IMC: Índice de masa corporal, MLG: Masa libre de grasa. T-student, significancia $P < 0.05$

Todos los participantes reportaron haber consumido las raciones de jugo de betabel que les fueron proporcionadas y que sus hábitos de alimentación y de ejercicio no cambiaron durante el estudio. Las características generales de los nadadores no fueron diferentes en ninguna de las dos fases de experimentación.

Bioquímica sanguínea. Se decidió realizar estos análisis bioquímicos en los participantes para asegurar un estado de salud óptimo de los participantes y que no esto no afectara su desempeño en algunas de las pruebas o pudiera poner en

riesgo su integridad. La media de marcadores como glucosa, triglicéridos, triglicéridos, HDL, LDL, VLDL, creatinina, proteínas totales, albumina, globulinas, se encontraron dentro de los rangos normales de salud tanto en la fase experimental como en la fase control. Los valores de estos marcadores se muestran en la tabla 5. Otro hallazgo importante de esta investigación es que, las concentraciones de colesterol total fueron disminuidas de manera significativa después de la suplementación con el jugo de betabel. Estos resultados coinciden con lo reportado por Holy, Isaac, & Ngoye (2017), quienes encontraron un efecto hipolipemiante con jugo de betabel en sujetos aparentemente sanos. Sin embargo este mismo grupo también reportó un efecto hipoglucemiante en el grupo JB, sin embargo en la presente investigación no se encontró un cambio significativo en ese parámetro. Lo anterior puede ser debido a que en el grupo de Holy *et al.*, (2017) a los participantes se les proporciona una carga de glucosa adicional al jugo de betabel, y en nuestro estudio los participantes acudieron en ayuno para poder obtener la muestra de sangre.

Tabla 4 Características bioquímicas de los participantes

Parámetro	JB Basal	DE	JB Final	DE	Valor P	CA Basal	DE	CA Final	DE	Valor P
Glucosa (mg/dL)	89.6 ± 9.2		89.9 ± 10.6		.913	97.3 ± 12.1		95.1 ± 5.9		.579
Colesterol Total (mg/dL)	199.5 ± 28.2		186.5 ± 27.5		.007*	196.3 ± 27.6		187.9 ± 29.6		.171
Triglicéridos (mg/dL)	146.4 ± 73.7		149.6 ± 61.1		.737	143.9 ± 79.6		181.4 ± 119.6		.150
HDL (mg/dL)	53.8 ± 25.0		39.0 ± 14.3		.078	50.0 ± 19.8		46.7 ± 22.7		.618
LDL (mg/dL)	117.1 ± 33.7		117.5 ± 24.7		.961	120.1 ± 28.9		108.8 ± 33.9		.297
Creatinina (mg/dL)	1.1 ± 0.2		1.1 ± 0.2		.721	1.1 ± 12.1		1.1 ± 5.6		.634
Proteínas Totales (g/dL)	7.8 ± 1.0		7.9 ± 1.0		.321	7.7 ± 0.8		7.6 ± 0.8		.507
Albumina (g/dL)	4.9 ± 0.3		4.9 ± 0.2		1.000	4.9 ± 0.3		4.8 ± 0.3		.647
Globulinas (g/dL)	2.7 ± 0.8		2.9 ± 0.8		.338	2.9 ± 1.1		3.0 ± 0.7		.844
Globulina/Albumina (g/dL)	1.7 ± 0.3		1.6 ± 0.3		.145	1.7 ± 0.5		1.8 ± 0.5		.601
VLDL (mg/0000dL)	29.2 ± 14.7		29.8 ± 12.1		.745	28.7 ± 15.9		36.2 ± 24.0		.150
Células blancas (x10 ³ /μL)	5.5 ± 0.8		5.3 ± 0.9		.343	5.4 ± 0.9		5.1 ± 0.7		.332
Células rojas (x10 ⁶ /μL)	4.8 ± 0.4		4.9 ± 0.4		.334	4.7 ± 0.3		4.9 ± 0.8		.455
Hemoglobina (g/dL)	15.2 ± 1.7		15.2 ± 1.7		.922	15.0 ± 1.6		15.5 ± 3.0		.457
Hematocrito (%)	40.9 ± 4.2		41.5 ± 3.7		.285	40.5 ± 3.4		41.7 ± 7.6		.442
VCM (fL)	84.9 ± 2.4		85.1 ± 2.5		.395	84.8 ± 1.9		84.8 ± 1.9		.678
HCM (pg)	31.5 ± 1.5		31.2 ± 1.6		.002*	31.4 ± 1.4		31.3 ± 1.5		.628
CHCM (g/dL)	37.1 ± 1.1		36.7 ± 1.2		.003*	37.1 ± 1.1		37.0 ± 1.1		.776
Plaquetas (x10 ³ /μL)	213.1 ± 36.4		225.4 ± 48.6		.172	226.1 ± 60.1		202.1 ± 82.7		.151
Linfocitos	2.08 ± 0.4		2.05 ± 0.6		.963	1.98 ± 0.5		1.76 ± 0.9		.032*
Combinación	0.47 ± 0.1		0.47 ± 0.1		.791	0.6 ± 0.1		0.5 ± 0.1		.253
Neutrófilos	3.1 ± 0.6		2.9 ± 0.5		1.000	2.9 ± 0.8		2.8 ± 0.7		.433

Los valores se presentan como la media ± la desviación estandar. HDL (Lipoproteínas de alta densidad); LDL (Lipoproteínas de baja densidad); VLDL (Lipoproteínas de muy baja densidad); VCM (Volumen corpuscular medio); HCM (Hemoglobina corpuscular media); CHCM (Concentración de hemoglobina corpuscular media); Combinación (eosinófilos, basófilos, monocitos) DE (Desviación Estándar). T- Student para muestras relacionadas. * Significancia estadística P<0.05

De los hallazgos más importantes de esta investigación es que parámetros como la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) fueron disminuidos (permaneciendo dentro de los valores normales) de manera significativa después del consumo de jugo de betabel. Importantemente esta es la primera investigación que reporta cambios en marcadores hematológicos seguido de una suplementación con NO_3^- en forma de jugo de betabel. La cantidad de hemoglobina presente en las células rojas es de gran importancia ya que esta proteína es encargada de llevar el oxígeno a todos los músculos esqueléticos. Anteriormente se ha reportado que la suplementación con JB disminuye el consumo de oxígeno en ejercicios de moderada y alta intensidad (Whitfield *et al* 2016). El óxido nítrico (ON) induce varios mecanismos que influyen en la utilización del O_2 durante la contracción del musculo esquelético. El ON es producido predominantemente en aquellas partes del musculo que se encuentran bajo condiciones hipoxicas, es decir con necesidad de más O_2 . Este mecanismo podría dar lugar a un adecuado flujo sanguíneo que cubra los requerimientos de O_2 . Por lo que la disminución en HCM y CHCM, puede estar desencadenada por una mejor utilización del oxígeno (menores condiciones hipoxicas). Algunas investigaciones han reportado que la realización de ejercicio en condiciones hipoxicas puede dar lugar a cambios hematológicos, que favorecen un mayor transporte de oxígeno a los tejidos (Czuba *et al.*, 2014), sin embargo estas adaptaciones desaparecen cuando la disponibilidad de oxígeno es mayor. Esta podría ser una explicación para la disminución en estos parámetros. Sin embargo, los mecanismos por los cuales la suplementación con NO_3^- disminuye el consumo de oxígeno aún no están esclarecidos.

Otro de los resultados interesantes de este estudio fue que los niveles de colesterol fueron disminuidos de manera significativa después de la suplementación con el jugo de betabel. En otros estudios se ha reportado un efecto antilípido y antigluceante del betabel (Rabeh e Ibrahim, 2014; Holy, *et al.*, 2017). El efecto potencial del betabel para disminuir lípidos séricos puede ser debido a su alto contenido fenólico, su alta capacidad antioxidante, su alto contenido de flavonoides o saponinas los cuales tienen efecto sobre el metabolismo de los lípidos (Fostettman

y Marston, 1995). Los resultados hallados en esta investigación pueden dar lugar a estrategias nutricionales para incluir el betabel para reducir los niveles lipídicos y glucémicos séricos.

Otro de los hallazgos importante de este estudio fue que en el grupo control, los linfocitos disminuyeron de manera significativa ($p < 0.05$) después de los estímulos de resistencia láctica. En otros estudios se ha evaluado el efecto acumulativo del ejercicio de corta duración y larga intensidad en algunos parámetros inmunológicos. En el grupo de Hsieh *et al.* (1999) se evaluaron a corredores de largas distancias,

los cuales corrieron 1 hora diaria al 75% VO_{2max} en una banda sin fin durante 1 semana. Y los autores reportaron que esos estímulos fueron capaz de disminuir el funcionamiento inmunológico (Células NK, linfocitos totales) en los participantes y que esta reducción es acumulativa a través de una semana de entrenamiento.

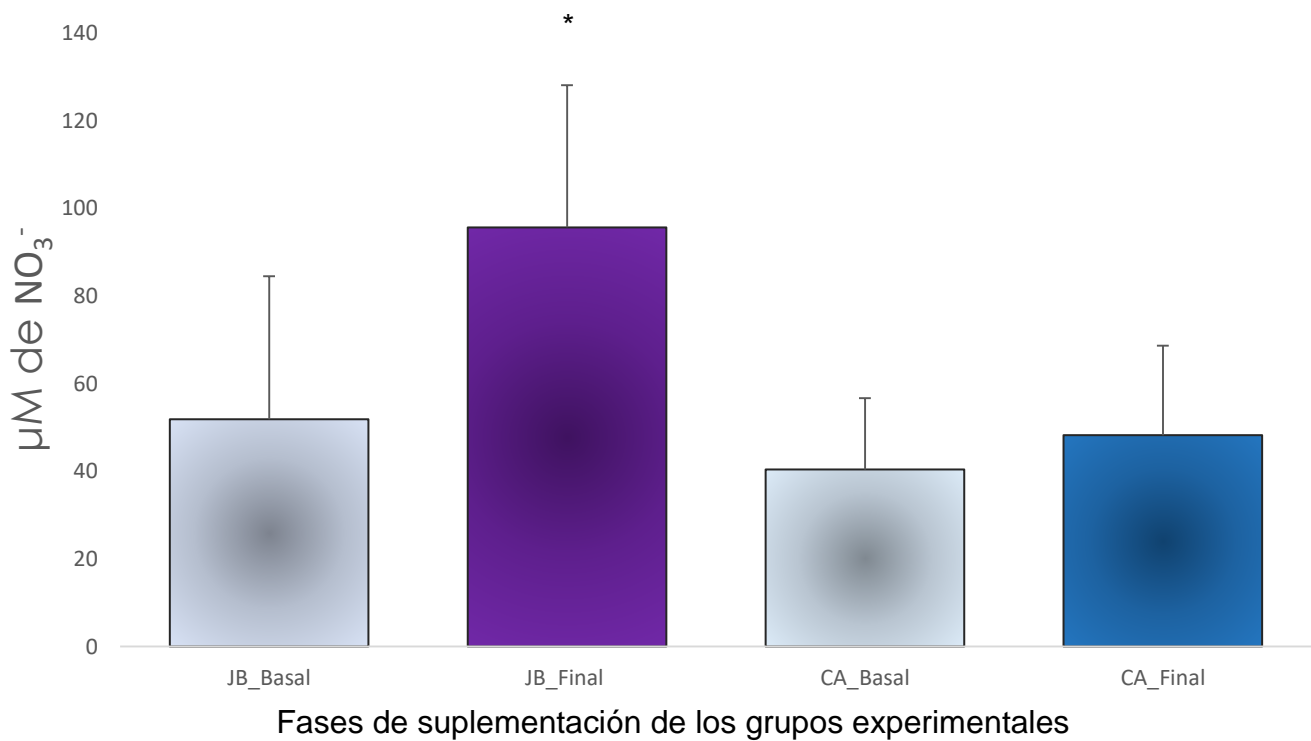


Figura 12 Concentración de nitrato en suero tras una suplementación de 10 días con jugo de betabel (JB) y en el grupo CA (sin jugo).

8.6 Concentraciones de Nitritos y Nitratos en suero

Las concentraciones de NO_3^- y NO_2^- fueron elevadas significativamente en el grupo JB después de consumir el jugo de betabel, en comparación con CA. Estos resultados son consistentes con otras investigaciones quienes han reportado elevaciones en las concentraciones plasmáticas de NO_3^- y NO_2^- tras una suplementación dietética con nitratos en forma de jugo de betabel (James *et al.*, 2013; Wylie *et al.*, 2017; Cermak *et al.*, 2012; Clifford *et al.*, 2017).

Consistente también con los resultados de otras investigaciones (), la presión sistólica y diastólica fue reducida (- 7 mm Hg) tras la suplementación con jugo de betabel comparado con el grupo placebo. Una mayor biodisponibilidad de ON va a desencadenar la síntesis de adenosín monofosfato cíclico, esto al mismo tiempo promueve la relajación del musculo liso (James *et al.*, 2013). La disminución de la presión sanguínea que ha sido observada tras el consumo de jugo de betabel en otros estudios, puede ser propiciada por esta relajación del musculo liso mediada por el ON (Larsen *et al.*, 2006).

8.7 Concentraciones de lactato en sangre

Los valores de lactato no fueron estadísticamente diferentes en las mediciones basales ni al inicio ni al final del primer test de rendimiento tanto en el grupo suplementado como en el grupo control. Las concentraciones de lactato fueron significativamente más bajas, tras la suplementación con jugo de betabel al finalizar el test 6 x 50m en comparación con el test inicial (12.3 ± 2.0 vs 13.5 mmol/L $P=0.021$). Sin embargo, al comparar los niveles de lactato del test final, se encontró que las concentraciones de lactato fueron mayores (Figura 7), en CA mas no significativamente, comparado con JB, 13.1 ± 2.6 vs. 12.3 ± 2.0 mmol/L ($P=0.145$), respectivamente.

Así como también las diferencias de lactato antes y después de las suplementación fueron menores estadísticamente significativas en el grupo de nadadores suplementado con JB ($P=0.046$). Estos resultados fueron consistente

con otros estudios en donde las concentraciones de lactato también fueron menores en el grupo suplementado con JB en comparación con CA.

Esto puede ser debido a que el nitrato contenido en el jugo de betabel es metabolizado en nitrito y favorecer la producción de óxido nítrico, lo cual promueve la vasodilatación y un mayor flujo sanguíneo, lo que a su vez ayuda a remover el lactato de una forma más rápida para volver a ser metabolizado pudiendo estar relacionado también con un aumento del flujo sanguíneo predominantemente en fibras musculares rápidas tipo IIb +d/x (Ferguson *et al.*, 2013). En otro estudio nadadores suplementados con jugo de betabel, se observó que el JB ayudó a disminuir la acumulación de lactato en sangre y se aumentó el umbral anaeróbico (Pinna *et al.*, 2014).

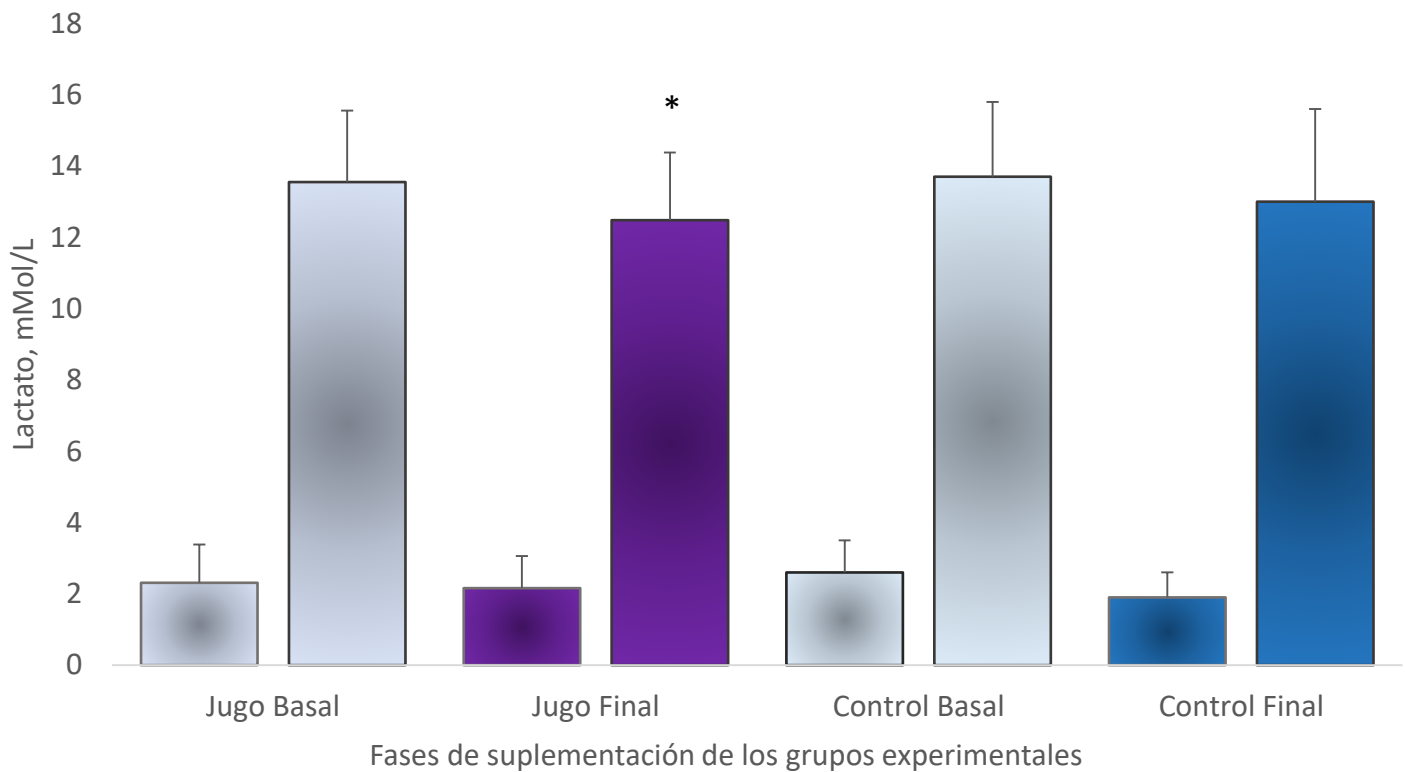


Figura 13 Concentraciones de lactato antes y después de los tratamientos tras realizar el test de rendimiento 6x50m. T-Student para muestras relacionadas *= $p < 0.05$. vs el grupo Jugo Basal.

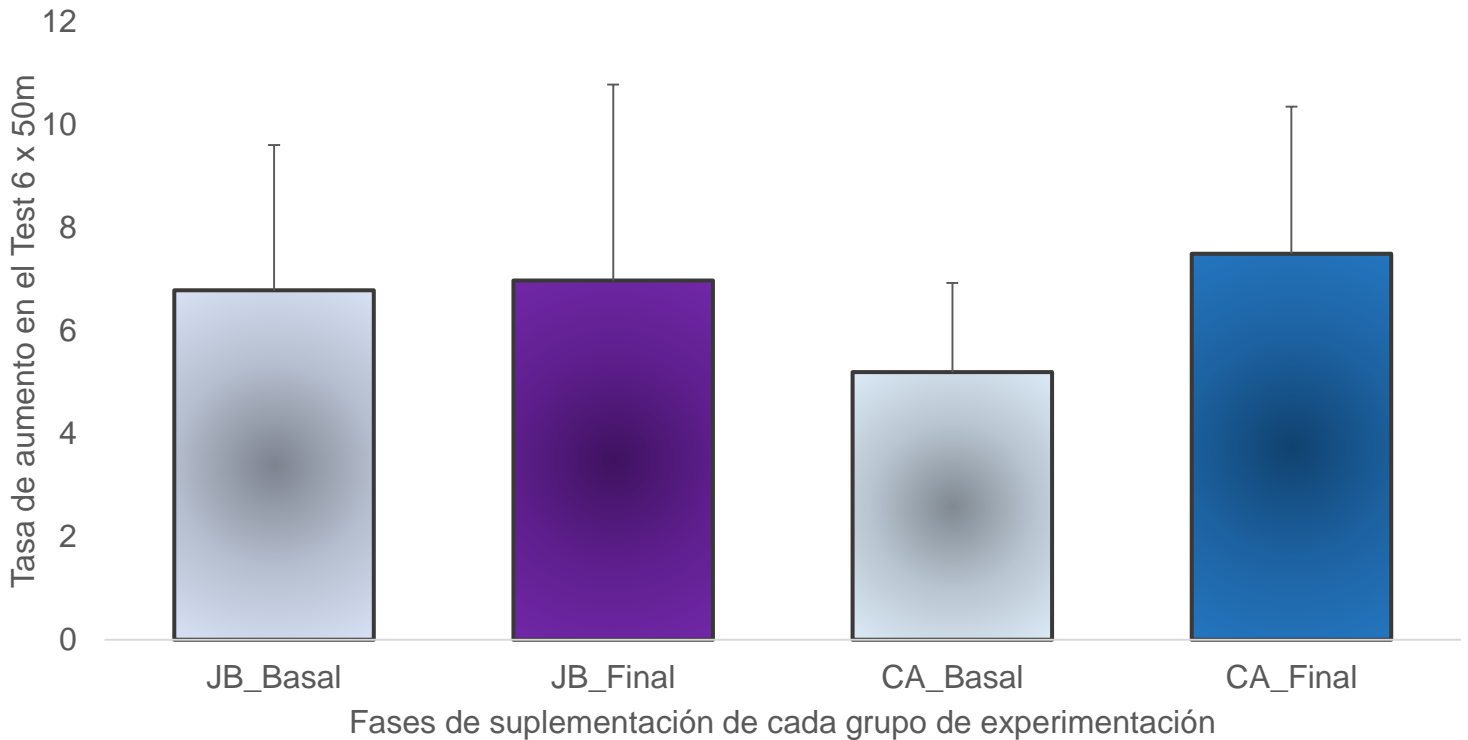


Figura 14 Tasa de aumento en las concentraciones de lactato en el Test 6x50m

8.7 Test de Rendimiento

Uno de los hallazgos más importantes de esta investigación fue la reducción en el tiempo registrado para recorrer las distancias, en cinco de seis distancias hubo una disminución del tiempo, sin embargo solo dos fueron significativas ($P > 0.05$). El tiempo promedio para recorrer 50 m fue disminuido, aunque no significativamente (Tabla 3) por el grupo suplementado con el jugo de betabel (42.55 ± 5.60 a 42.01 ± 5.68 segundos) en comparación con el grupo control (42.64 ± 5.09 a 42.54 ± 5.13 segundos). El efecto en la reducción significativa del tiempo para recorrer los 50m, tras la suplementación con JB, esto puede ser observado principalmente en el 5° (de 43.80 ± 5.66 a 42.62 ± 5.58 s $P=0.039$) y en el 6° (de 44.17 ± 5.79 a 43.0 ± 6.34 p= 0.023 s) sprint en comparación con el grupo control (de 44.03 ± 5.3 a 43.35 ± 5.4 p=0.255; de 44.26 ± 5.6 a 43.95 ± 5.2 p=0.545). Lo que sugiere un efecto ergogénico del jugo de betabel tras repetidos esfuerzos submáximos. Los datos obtenidos concuerdan con lo reportado en la literatura donde tras una suplementación con

jugo de betabel, mejoró la realización de ejercicios intermitentes de alta intensidad (Wylie *et al.*, 2016).

Tabla 3. Resultados del Test de rendimiento (6 x 50m) antes y después de la suplementación con jugo de betabel.

DISTANCIA, M	CA					JB				
	Antes		Después			Antes		Después		
	Media	± DS	Media	± DS	P	Media	± DS	Media	± DS	P
1° 50	40.76	± 5.1	41.05	± 5.0	0.444	40.19	± 5.46	40.59	± 5.06	0.427
2° 50	41.17	± 5.0	41.68	± 5.3	0.195	41.60	± 5.59	41.37	± 5.59	0.263
3° 50	42.15	± 5.1	42.24	± 5.3	0.843	42.22	± 5.70	41.67	± 5.68	0.304
4° 50	43.46	± 5.3	42.96	± 5.1	0.257	43.34	± 5.92	42.81	± 6.28	0.282
5° 50	44.03	± 5.3	43.35	± 5.4	0.255	43.80	± 5.66	42.62	± 5.58	0.039*
6° 50	44.26	± 5.6	43.95	± 5.2	0.545	44.17	± 5.79	43.00	± 6.34	0.023*
PROMEDIO	42.64	± 5.0	42.64	± 5.1	0.721	42.55	± 5.60	42.01	± 5.68	0.107

T-Student para muestras relacionadas. * = $p < 0.05$. vs el grupo control.

Los mecanismos por los cuales el jugo de betabel mejora el rendimiento son aún imprecisos. Sin embargo, se han propuesto varias hipótesis para explicar los medios por los cuales se observan dichas mejoras.

Algunos autores señalan que un aumento en los niveles de óxido nítrico tras una suplementación con NO_3 , pueden reducir el costo de PCr durante la producción de fuerza en ejercicios intermitentes de alta intensidad, lo cual pudiese retrasar la disminución de PCr durante la realización de ejercicios intermitentes (Fulford *et al.*, 2013).

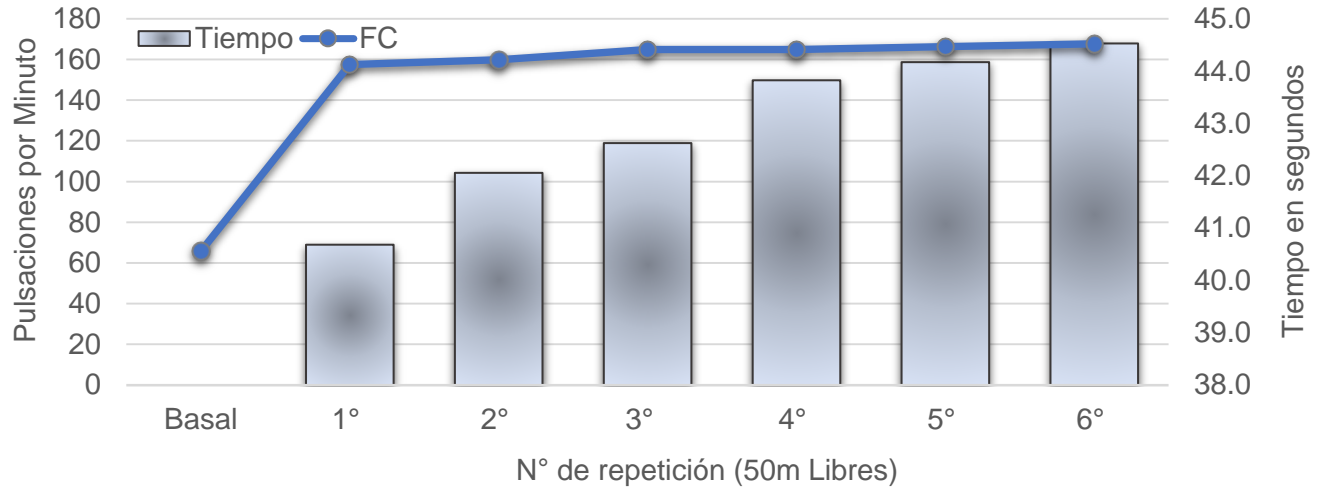
Otros estudios sugieren que tras una suplementación con NO_3 , hay un aumento en el fenómeno de perfusión/oxigenación predominantemente de las fibras de tipo II. Esto podría tener un efecto positivos en el proceso de resíntesis de PCr dependiente de O_2 , en las fibras musculares tipo II que son las que se ven comprometidas durante los ejercicios intermitentes de alta intensidad (Wylie *et al.*, 2016). Una investigación reciente que utilizó un modelo animal, reportó que una

suplementación de NO_3 en forma de jugo de betabel, aumenta el flujo sanguíneo y la conductancia vascular predominantemente en las fibras musculares tipo IIb + d/x; en consecuencia esto podría favorecer la función oxidativa, reduciendo la utilización del metabolismo glucolítico (menor producción de lactato) (Ferguson *et al.*, 2013).

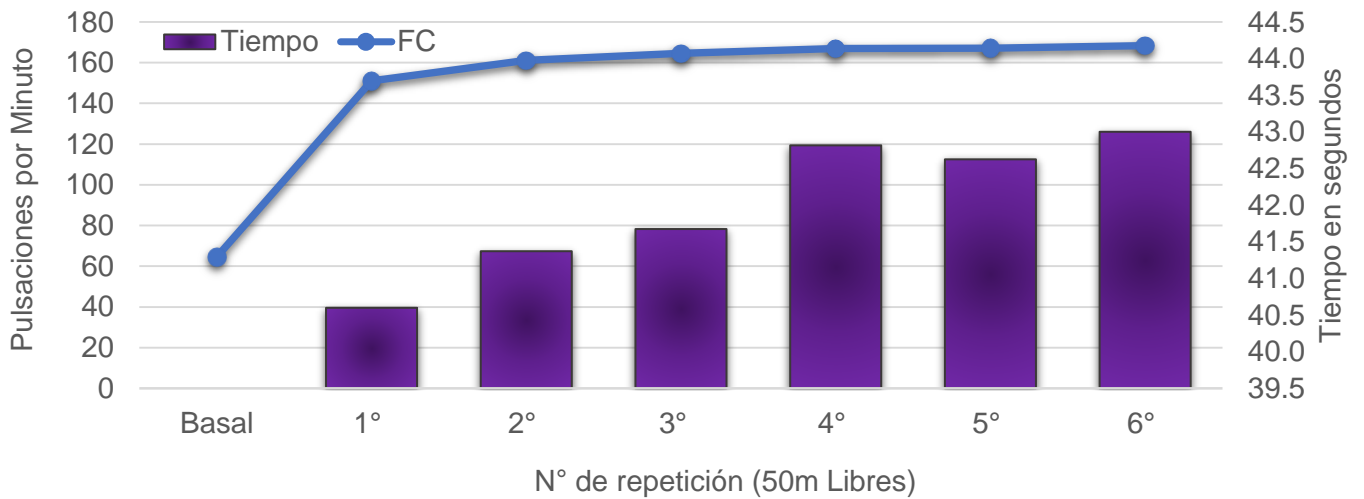
Por otro lado, recientes publicaciones han reportado un aumento en la producción de fuerza en fibras musculares tipo II en consecuencia de un efecto regulador de NO en los procesos de producción de energía en la bomba de calcio del retículo sarcoplasmático; un incremento en la producción de fuerza; disminución del desarrollo de fatiga en altas frecuencias de contracción muscular. Existe evidencia que pequeñas elevaciones de óxido nítrico mejoran el metabolismo muscular, previniendo la liberación excesiva de calcio y por consecuencia modula el costo de ATP en la producción de fuerza (Pinna *et al.*, 2014).

Una suplementación dietaria con NO_3 ha demostrado que mejora la tolerancia al ejercicio de alta intensidad y retrasa la aparición de la fatiga, los autores de este estudio señalan que el NO podría tener un efecto positivo en la cinética en el consumo del VO_2 , además, se sugiere que durante el ejercicio de alta intensidad, el $\text{VO}_{2\text{max}}$ se alcanza más lentamente o puede ser sostenido durante un mayor tiempo (Bailey *et al.*, 2009). Esto es de gran relevancia, ya que mantener el $\text{VO}_{2\text{max}}$ durante un tiempo más prolongado, confiere la capacidad de mantener una frecuencia cardíaca submáxima durante periodos más largos y por tanto soportar eficientemente series de alta intensidad, como las que son aplicadas durante una etapa de resistencia láctica. Aunque en la presente investigación no se encontraron diferencias significativas en la frecuencia cardíaca en reposo, ni durante el Test 6 x 50m. Ver figura 8 y 9.

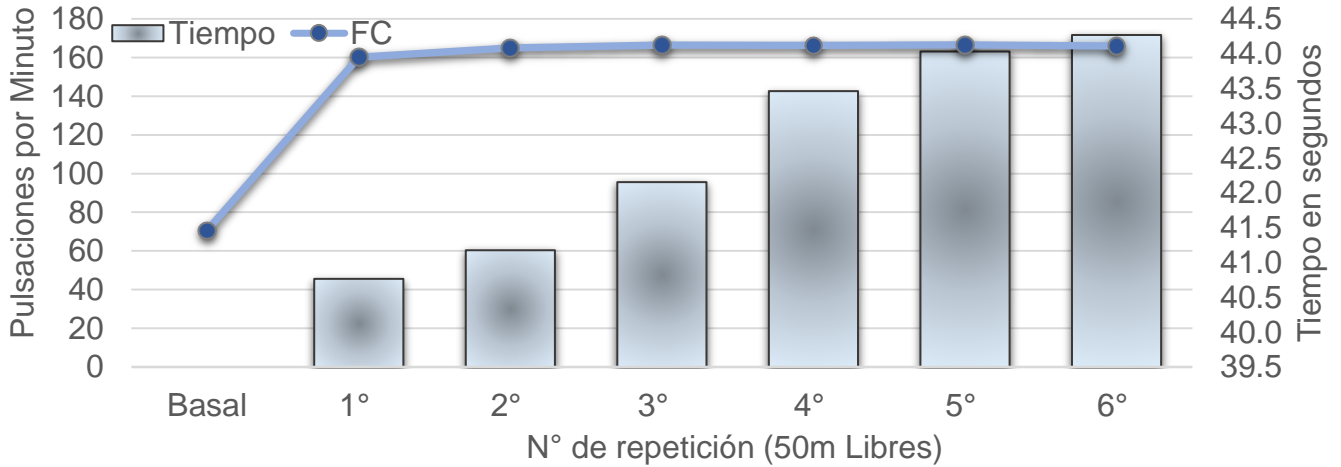
a) Test 6x50 m JB_basal



b) Test 6x50 m JB_Final



c) Test 6x50m CA_Basal



d) Test 6x50m CA_Final

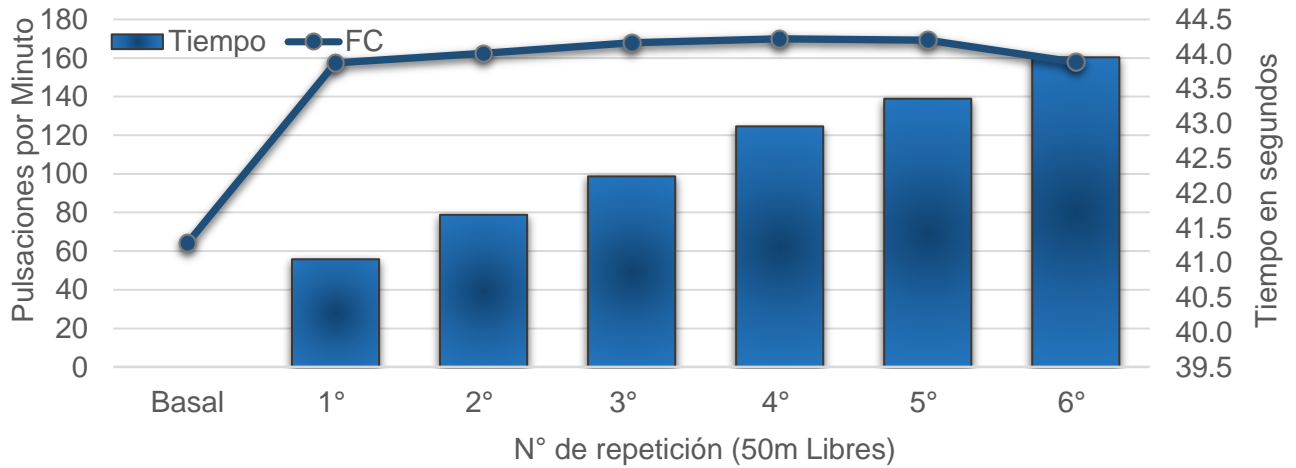


Figura 15 Efecto de la suplementación del jugo de betabel en el tiempo y frecuencia cardiaca en el test 6x50m. Fig a, b, c y d

En otra investigación realizada con nadadores entrenados, los autores no encontraron diferencias significativas en una prueba de tiempo (8 x 21m) entre un grupo suplementado con jugo de betabel y el grupo control; sin embargo los investigadores reportan una posible mejora en la segunda parte de la prueba, ellos mencionan que este efecto pudo ser debido a que la reducción de NO₂ a NO· y sus potenciales efectos ergogénicos pueden ser maximizados cuando la presión de oxígeno muscular y el pH son bajos. Sin embargo una posible razón por la cual no fue posible observar un efecto ergogénico del jugo de betabel, es debido a que los autores utilizaron una sola dosis de jugo de betabel (Lowing *et al.*, 2017).

En el grupo de Pinna *et al.*, (2014) se demostró que un grupo de nadadores master después de consumir jugo de betabel (0.5 l/día de jugo de betabel orgánico por seis días), logró aumentar la carga de trabajo alcanzada en el umbral anaeróbico además, de reducir el costo energético aeróbico al nadar a velocidades submáximas. Estos resultados coinciden con los datos que hemos obtenido en la presente investigación, donde tras una suplementación con jugo de betabel se ha obtenido una mejora significativa en la realización de esfuerzos submáximos (umbral anaeróbico).

De acuerdo a recientes investigaciones, las betalaínas pueden mejorar la realización de pruebas contrarreloj, reduciendo el tiempo en que se realizan estas, además de favorecer los procesos de recuperación (Montenegro *et al.*, 2016). En adición los autores de este mismo estudio, encontraron que la creatin quinasa, un marcador de daño muscular, aumento en menor cantidad en el grupo que fue suplementado con betalaína en comparación con el grupo placebo. Tanto en modelos *in vitro* e *in vivo* las betalaínas han demostrado tener efectos antioxidantes y antiinflamatorios (Carrillo-López & Yahia, 2017; Krajka-Kuźniak *et al.*, 2013; Kanner *et al.*, 2001). Datos obtenidos por diferentes investigaciones señalan que las betalaínas y algunos extractos de betabel, fungen como mediadores, al intervenir en la cascada de señalización pro-inflamatoria del Factor Nuclear-Kappa B (NF-κB) (El Gamal *et al.*, 2014). NF-κB activa y transcribe la mayoría de los genes diana que regulan y amplifican la respuesta inflamatoria (Clifford *et al.*, 2015). Dicho esto, se

ha observado que cargas de trabajo de alta intensidad, dan lugar a la activación del factor de transcripción de NF- κ B, acompañado de una disminución en las concentraciones de GSH y una respuesta inmunitaria (Cuevas *et al.*, 2004); (Sakelliou *et al.*, 2016), lo que podría tener un efecto negativo en la salud y retrasar los procesos de recuperación muscular. Por tanto, una disminución de la respuesta inflamatoria por las betalaínas podría acelerar los procesos de recuperación post ejercicio.

La combinación de la suplementación con nitratos y betalaínas, como es el caso del jugo de betabel, podría tener un efecto ergogénico dado por la sinergia de estos compuestos. Dichos beneficios podrían potencializar las adaptaciones fisiológicas al entrenamiento y mejorar los procesos de recuperación.

8.8 Concentraciones de GSH

Los niveles de GSH en el grupo suplementado fueron (de 10.8 ± 4.4 a 11.8 ± 3.1 μ M de GSH, $p = 0.276$) en comparación del grupo control (de 8.4 ± 2.8 a 12.4 ± 4.6 μ M de GSH, $p = 0.005$) ver figura 16. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas al comparar el test final entre el grupo suplementado con el grupo control. Nuestros resultados son similares a los reportados por Tipple & Rogers. (2012) quienes encontraron valores de 1 a 10 μ M en plasma de sujetos sanos y por los encontrados por Ktretzschmar *et al.* (1991) quienes reportaron valores de 14.93 ± 0.80 en sujetos bien entrenados. Las diferencias en relación a nuestros datos pueden estar dados por el método para realizar las determinaciones.

Los hallazgos obtenidos de esta investigación muestran que el consumo de jugo de betabel no aumenta de manera significativa las concentraciones de GSH, sin embargo, importantemente, se encontró que los estímulos de resistencia láctica, aumentan de manera significativa las defensas antioxidantes en nadadores master. Lo que sugiere que una etapa de resistencia láctica (9 días) podría mejorar la capacidad para combatir las especies reactivas producidas durante el ejercicio, además de reducir el tiempo en pruebas cortas como los 50 m libres.

A diferencia de otras investigaciones donde se ha visto que una suplementación con alimentos ricos en antioxidantes puede mejorar algunos marcadores de daño oxidativo o aumentar la concentración y actividad de moléculas antioxidantes posterior al ejercicio (Goldfarb *et al.*, 2011), en nuestra investigación el aumento en la concentración de GSH en el grupo suplementado no fue significativa, esto puede ser debido a las cantidades de jugo de betabel suministradas a los sujetos y la duración del tratamiento pudo no haber sido suficiente para estimular los mecanismos de defensa antioxidante (Banerjee *et al.*, 2002).

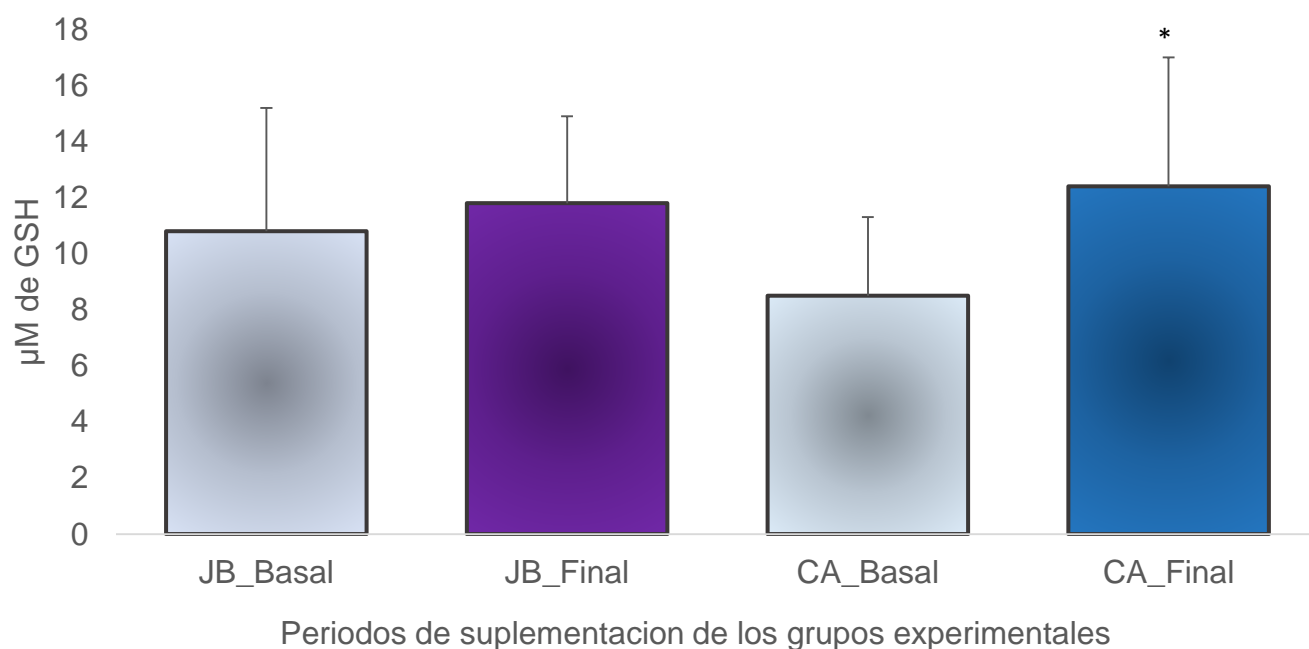


Figura 16. Efecto del consumo de jugo de betabel en las concentraciones de GSH. t-Student para muestras relacionadas. * $p < 0.05$ CA_Basal vs CA_Final

Sin embargo, algunos autores especulan que algunos componentes presentes en el betabel, como las betalaínas y el NO_3 tienen la capacidad de donar electrones a otras moléculas radicales. Diferentes investigaciones han demostrado mediante pruebas de capacidad antioxidante, que el jugo de betabel posee una alta actividad antiradical (Wooton *et al.*, 2011; Escribano *et al.*, 1998). Moléculas tales como el peroxinitrito, el dióxido de nitrógeno y el nitroxilo pueden ser neutralizadas por el ON predominantemente por interacciones radical-radical y ligando-metal (Winki *et al.*, 2015). Lo anteriormente mencionado podría ser una posible respuesta

para el modesto aumento en las concentraciones de GSH del grupo suplementado en este estudio. Ya que debido a la capacidad de las betalaínas y el NO₃ de estabilizar algunas moléculas radicales, se puede suponer un menor daño oxidativo por parte de estas especies reactivas y una menor estimulación de sistemas antioxidantes endógenos.

En recientes estudios se ha registrado que la suplementación con jugo de betabel no tiene efectos significativos sobre marcadores de estrés oxidativo e inflamación (Clifford *et al.*, 2016), sin embargo es este mismo estudio se observó que la suplementación con jugo de betabel aceleró los procesos de recuperación y disminuyó el dolor muscular posterior al ejercicio, en comparación con el grupo control. En otra investigación de este mismo grupo se vio que la recuperación fue mayor a las 72 horas posteriores al ejercicio en el grupo suplementado con jugo de betabel en comparación con el grupo control (Clifford *et al.*, 2016). En nuestra investigación los estímulos de resistencia láctica se dieron cada 72 horas, por lo que se podría esperar que el grupo suplementado tuviera una mejor recuperación en comparación con el grupo control y por tanto tener una mejor adaptación al ejercicio. Sin embargo una de las limitaciones de la presente investigación es que, no fueron considerados marcadores de recuperación ni daño muscular.

Por otro lado, otras investigaciones han demostrado que el ejercicio de alta intensidad, mejora los mecanismos de defensa antioxidante, incluso por encima del ejercicio predominantemente aeróbico (Tucker *et al.*, 2015). De manera consistente se ha visto que las concentraciones de GSH aumentan como parte de los mecanismos de adaptación al ejercicio, en este caso por parte del hígado, como un aumento en la producción o lanzamiento de esta molécula (Gohil *et al.*, 1987; Fatouros *et al.*, 2004). Debido a que los sujetos utilizados en esta investigación pueden ser clasificados como moderadamente entrenados, sus sistemas antioxidantes puede ser que hayan sido sometidos a otros estímulos de esfuerzos submáximos como los de nuestro test, durante entrenamientos anteriores.

En contraste con los resultados obtenidos en esta investigación, en el grupo de Wiecek *et al.*, (2015), encontraron que después de ejercicios de alta intensidad las concentraciones de GSH habían disminuido de manera significativa al menos hasta 24 horas después del ejercicio. De manera opuesta con nuestros resultados, estas diferencias pueden ser debidas a que los sujetos de estudio a pesar de ser físicamente activos no estaban familiarizados con los ejercicios realizados durante el test.

IX. CONCLUSIONES

El presente trabajo tuvo dos vertientes principales, la caracterización del jugo de betabel enfocado en el contenido de fenoles totales, flavonoides, betalaínas, nitratos y la capacidad antioxidante por el método de DPPH· y ABTS, y por otro lado el efecto del consumo de jugo de betabel en el rendimiento de nadadores master durante una etapa de resistencia láctica.

Los resultados de esta investigación sugieren que el jugo de betabel contiene altas cantidades de los elementos antioxidantes anteriormente mencionados. El jugo de betabel podría ser considerado como una fuente de compuestos activos anticancerígenos y promotores de la salud. Debido a su alto contenido de nitrato, el betabel podría ayudar a combatir enfermedades de tipo cardiovascular. Los valores de los compuestos bioactivos, la capacidad antioxidante y el contenido de nitrato del jugo de betabel no fueron significativamente diferente.

El consumo de jugo de betabel disminuye la acumulación de lactato en sangre después de estímulos de alta intensidad. El consumo de dos raciones de 140 ml de jugo de betabel por 9 días tras una etapa de resistencia láctica puede disminuir el tiempo en pruebas de 50 m libres. Una etapa de resistencia láctica puede estimular el sistema de defensa antioxidante endógeno y subsecuentemente proteger contra enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Los resultados encontrados en el presente estudio hacen una importante contribución para el diseño de estrategias nutricionales que pueden favorecer las adaptaciones fisiológicas que se pretenden desarrollar durante una etapa con estímulos de resistencia láctica en nadadores master.

Consideraciones y limitaciones

Es importante mencionar que aunque la suplementación con jugo de betabel aumentó de manera significativa las concentraciones de nitrito y nitrato en plasma, las concentraciones de NO₂ y NO₃ fueron menores en comparación con lo reportado por otros estudios. Esto puede ser debido a que la muestra de sangre fue tomada por lo menos 8 horas después que la ración previa de jugo de betabel había sido consumida. En el presente trabajo el grupo control consumió solo agua, por lo que se considera que haber tenido un grupo placebo hubiese optimizado los hallazgos encontrados.

X. BIBLIOGRAFÍA

- Amaya-Villalva, M. F., González-Aguilar, G., Rouzaud-Sández, O., Gorinstein, S., Astiazarán-García, H., & Robles-Sánchez, M. (2015). Obesity-related indicators and their relationship with serum antioxidant activity levels in Mexican adults. *Nutr Hosp*, 31(5), 1989–1995.
- Anderson, M. E. (1998). Glutathione: an overview of biosynthesis and modulation. *Chemico-Biological Interactions*, 111, 1–14.
- Avella, D. M. G., García, C. A. O., & Cisneros, A. M. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. In *Memorias del Simposio de Metrología. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Nacional de Querétaro*. Retrieved from http://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

- Balakrishnan, S. D., & Anuradha, C. V. (1998). Exercise, depletion of antioxidants and antioxidant manipulation. *Cell Biochemistry and Function*, 16(4), 269–275. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0844\(1998120\)16:4<269::AID-CBF797>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0844(1998120)16:4<269::AID-CBF797>3.0.CO;2-B)
- Bell, P. G., McHugh, M. P., Stevenson, E., & Howatson, G. (2014). The role of cherries in exercise and health. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 24(3), 477–490. <https://doi.org/10.1111/sms.12085>
- Bell, P. G., Walshe, I. H., Davison, G. W., Stevenson, E., & Howatson, G. (2014). Montmorency Cherries Reduce the Oxidative Stress and Inflammatory Responses to Repeated Days High-Intensity Stochastic Cycling. *Nutrients*, 6(2), 829–843. <https://doi.org/10.3390/nu6020829>
- Borg, G. A. (1970). Psychological bases of perceived exertion. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 4 (5), 377-381.
- Braun, J., Masoud, M., Brixius, K., & Brinkmann, C. (2016). Oxidativer Stress bei Mastersschwimmern nach hochintensivem (Intervall-) Training (HI(I)T). *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 166(7–8), 242–249. <https://doi.org/10.1007/s10354-016-0451-4>
- Breese B. C., McNarry M. A., Marwood S., Blackwell J. R., Bailey S. J., Jones A. M., (2013) Beetroot juice supplementation speeds O₂ uptake kinetics and improves exercise tolerance during severe intensity exercise initiated from an elevated metabolic rate. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 305:1441–1550. doi:10.1152/ajpregu.00295.2013
- Candia-Luján, R., De Paz Fernández, J. A., & Costa Moreira, O. (2015). ¿ Son efectivos los suplementos antioxidantes en la disminución del dolor muscular tardío? Una revisión sistemática. *Nutrición Hospitalaria*, 31(1). Retrieved from <http://www.redalyc.org/html/3092/309232878003/>

- Carrillo-López, A., & Yahia, E. M. (2017). Betalains: Chemistry and Biological Functions. *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health, 2nd Edition*, 383–392.
- Castro Miranda A. (2014). *EFFECTO DEL PROCESAMIENTO TÉRMICO SOBRE EL CONTENIDO DE BETALAINAS Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL BETABEL (Beta vulgaris L.) (Tesis de licenciatura)*. Universidad Autónoma del Estado De México, Toluca, México.
- Cermak, N. M., Gibala, M. J., Van Loon, L. J., & others. (2012). Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 22(1), 64.
- Clifford, T., Bell, O., West, D. J., Howatson, G., & Stevenson, E. J. (2016). The effects of beetroot juice supplementation on indices of muscle damage following eccentric exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 116(2), 353–362. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3290-x>
- Clifford, T., Howatson, G., West, D., & Stevenson, E. (2015). The Potential Benefits of Red Beetroot Supplementation in Health and Disease. *Nutrients*, 7(4), 2801–2822. <https://doi.org/10.3390/nu7042801>
- Cuevas M. J., Almar M., García-Glez J. C., García-López D., De Paz J. A., Alvear-Órdenes I. & González-Gallego J. (2005). Changes in oxidative stress markers and NF-κB activation induced by sprint exercise, *Free Radical Research*, 39: (4), 431-439, DOI: 10.1080/10715760500072149
- Czuba M., Maszczyk A., Gerasimuk D., Roczniok R., Fidos-Czuba O., Zając, Golas A., Mostowik A. y Langfort J. (2016). The effects of hypobaric hypoxia on erythropoiesis, maximal oxygen uptake and energy cost of exercise under normoxia in elite biathletes. *Journal of Sport Science and Medicine*. 13. 912-920.

- Davies, K. J., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107(4), 1198–1205.
- Díaz, L. E., Duarte, A., & Marcos, A. (2008). Alimentos nutracéuticos, suplementos dietéticos y plantas medicinales. Retrieved from <http://digital.csic.es/handle/10261/90067>
- Esatbeyoglu, T., Wagner, A. E., Motafakkerazad, R., Nakajima, Y., Matsugo, S., & Rimbach, G. (2014). Free radical scavenging and antioxidant activity of betanin: electron spin resonance spectroscopy studies and studies in cultured cells. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 73, 119–126. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.08.007>
- Escribano, J., Pedreño, M. A., García-Carmona, F., & Muñoz, R. (1998). Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochemical Analysis*, 9(3), 124–127. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1565\(199805/06\)9:3<124::AID-PCA401>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1565(199805/06)9:3<124::AID-PCA401>3.0.CO;2-0)
- Ferguson, S. K., Hirai, D. M., Copp, S. W., Holdsworth, C. T., Allen, J. D., Jones, A. M., ... Poole, D. C. (2013). Impact of dietary nitrate supplementation via beetroot juice on exercising muscle vascular control in rats: Beetroot juice and exercising muscle blood flow. *The Journal of Physiology*, 591(2), 547–557. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.243121>
- Fernández, J. M., Da Silva-Grigolettob, M. E., & Túnez-Fiñanac, I. (2008). Medicina del Deporte. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Marzo_DA_SILVA-GRIGOLETTO/publication/43602256_Estrs_oxidativo_inducido_por_el_ejercicio/links/0c96052fe55e62e848000000.pdf

- Frank, T., Stintzing, F. C., Carle, R., Bitsch, I., Quaas, D., Strass, G., ... Netzel, M. (2005). Urinary pharmacokinetics of betalains following consumption of red beet juice in healthy humans. *Pharmacological Research*, *52*(4), 290–297. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.04.005>
- Georgiev, V. G., Weber, J., Kneschke, E.-M., Denev, P. N., Bley, T., & Pavlov, A. I. (2010). Antioxidant Activity and Phenolic Content of Betalain Extracts from Intact Plants and Hairy Root Cultures of the Red Beetroot *Beta vulgaris* cv. Detroit Dark Red. *Plant Foods for Human Nutrition*, *65*(2), 105–111. <https://doi.org/10.1007/s11130-010-0156-6>
- Gibala, M. J., McGee S. L. (2008). Metabolic Adaptations to short-term High-Intensity Interval Training: A little pain for a lot of gain?. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. *36* (2). 58 - 63. doi: 10.1097/JES.0b013e318168ec1f
- Gohil, K., Viguie, C., Stanley, W. C., Brooks, G. A., & Packer, L. (1988). Blood glutathione oxidation during human exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, *64*(1), 115–119.
- Gomes, E. C., Silva, A. N., & Oliveira, M. R. de. (2012). Oxidants, Antioxidants, and the Beneficial Roles of Exercise-Induced Production of Reactive Species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2012*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2012/756132>
- Gomez-Cabrera, M.-C., Domenech, E., & Viña, J. (2008). Moderate exercise is an antioxidant: upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology & Medicine*, *44*(2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001>
- Hämäläinen, M., Nieminen, R., Vuorela, P., Heinonen, M., & Moilanen, E. (2007). Anti-Inflammatory Effects of Flavonoids: Genistein, Kaempferol, Quercetin, and Daidzein Inhibit STAT-1 and NF- κ B Activations, Whereas Flavone, Isorhamnetin, Naringenin, and Pelargonidin Inhibit only NF- κ B Activation along with Their Inhibitory Effect on iNOS Expression and NO Production in

Activated Macrophages. *Mediators of Inflammation*, 2007, 1–10.
<https://doi.org/10.1155/2007/45673>

Hernández A., Schiffer T. A., Ivarsson N., Cheng A.J., Bruton J.D., Lundberg J.O., Weitzberg E., Westerblad H. (2012). Dietary nitrate increases tetanic $[Ca^{2+}]_i$ and contractile force in mouse fast-twitch muscle. *J Physiol* 590:3575–3583.
doi:10.1113/jphysiol.2012.232777

Holmér, I. (1992). Swimming physiology. *The Annals of Physiological Anthropology. Seiri Jinruigaku Kenkyukai Kaishi*, 11(3), 269–276.

Holy, B., Isaac, N. N., Ngoye, B. O. (2017). Postprandial effect of betroot (*Beta Vulgaris*) juice on glucose and lipids levels of apparently healthy subjects. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*. 4 (05), 60 – 62.

Hsieh, S. S., Hsu, T. G., y Lin, H. Y (1 999). The effects of one-week high intensity endurance training on lymphocyte function and natural killer cells. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 31(5), s59.

Howatson, G., McHugh, M. P., Hill, J. A., Brouner, J., Jewell, A. P., van Someren, K. A., ... Howatson, S. A. (2010). Influence of tart cherry juice on indices of recovery following marathon running. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 20(6), 843–852. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2009.01005.x>

Ji, L. L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Society for Experimental Biology and Medicine (New York, N.Y.)*, 222(3), 283–292.

José A. Barreiro M., & Aleida J. Sandoval B. (n.d.). *Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas*.

Kabasakalis, A., Kyparos, A., Tsalis, G., Loupos, D., Pavlidou, A., & Kouretas, D. (2011). Blood oxidative stress markers after ultramarathon swimming. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 25(3), 805–811.

- Kalyanaraman, B. (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biology*, 1(1), 244–257. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.01.014>
- Kanner, J., Harel, S., & Granit, R. (2001). Betalains A New Class of Dietary Cationized Antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5178–5185. <https://doi.org/10.1021/jf010456f>
- Kathiravan, T., Nadasabapathi, S., & Kumar, R. (2014). Standardization of process condition in batch thermal pasteurization and its effect on antioxidant, pigment and microbial inactivation of Ready to Drink (RTD) beetroot (*Beta vulgaris* L.) juice. *International Food Research Journal*, 21(4).
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J.-O., Dommès, J., & Pincemail, J. (2007). Evolution of Antioxidant Capacity during Storage of Selected Fruits and Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8596–8603. <https://doi.org/10.1021/jf071736j>
- Krajka-Kuźniak, V., Paluszczak, J., Szaefer, H., & Baer-Dubowska, W. (2013). Betanin, a beetroot component, induces nuclear factor erythroid-2-related factor 2-mediated expression of detoxifying/antioxidant enzymes in human liver cell lines. *The British Journal of Nutrition*, 110(12), 2138–2149. <https://doi.org/10.1017/S0007114513001645>
- Kujala T S, J M Loponen, D K Klika, K Pihlaja (2000). Phenolics and betacyanins in red beetroot (*Beta vulgaris*) root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *J. Agric. Food Chem.* 48:5338-5372.
- Kujawska, M., Ignatowicz, E., Murias, M., Ewertowska, M., Mikołajczyk, K., & Jodynis-Liebert, J. (2009). Protective effect of red beetroot against carbon

tetrachloride- and N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(6), 2570–2575. <https://doi.org/10.1021/jf803315d>

Lansley, K. E., Winyard, P. G., Fulford, J., Vanhatalo, A., Bailey, S. J., Blackwell, J. R., ... Jones, A. M. (2011). Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of walking and running: a placebo-controlled study. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 110(3), 591–600. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01070.2010>

Larsen FJ, Ekblom B, Sahlin K, Lundberg JO, Weitzberg E. (2006). Effects of dietary nitrate on blood pressure in healthy volunteers. *The New England journal of medicine*. 3; 355-2792.

Lundberg, J. O., Carlström, M., Larsen, F. J., & Weitzberg, E. (2011). Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. *Cardiovascular Research*, 89(3), 525–532. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvq325>

Lundberg, J. O., Weitzberg E. & Gladwin M. (2008). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature Review Drug Discovery*. Volumen 7. 156 - 167.

Malien-Aubert, C., Dangles, O., & Amiot, M. J. (2001). Color stability of commercial anthocyanin-based extracts in relation to the phenolic composition. Protective effects by intra-and intermolecular copigmentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 170–176.

Manach, C., Williamson, G., Morand, C., Scalbert, A., & Rémésy, C. (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1 Suppl), 230S–242S.

Masters | fina.org - Official FINA website. (n.d.). Retrieved December 26, 2016, from <http://www.fina.org/discipline/masters>

- Matthaiou, C. M., Goutzourelas, N., Stagos, D., Sarafoglou, E., Jamurtas, A., Koulocheri, S. D., ... Kouretas, D. (2014). Pomegranate juice consumption increases GSH levels and reduces lipid and protein oxidation in human blood. *Food and Chemical Toxicology*, 73, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.07.027>
- Meamarbashi, A., & Rajabi, A. (2015). Preventive effects of 10-day supplementation with saffron and indomethacin on the delayed-onset muscle soreness. *Clinical Journal of Sport Medicine: Official Journal of the Canadian Academy of Sport Medicine*, 25(2), 105–112. <https://doi.org/10.1097/JSM.0000000000000113>
- Middleton, E., Kandaswami, C., & Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673–751.
- MI, U., & Pm, C. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 189(1–2), 41–54. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00151-3](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00151-3)
- Myburgh, K. H. (2014). Polyphenol Supplementation: Benefits for Exercise Performance or Oxidative Stress? *Sports Medicine*, 44(S1), 57–70. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0151-4>
- Navarro, F., Valdivielso, F. N., & Arsenio, O. (2002). *Natación II, la natación y su entrenamiento: técnica, planificación del entrenamiento, análisis y desarrollo , principios pedagógicos*. Gymnos.
- Nguyen, T., Nioi, P., & Pickett, C. B. (2009). The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(20), 13291–13295. <https://doi.org/10.1074/jbc.R900010200>

OMS | Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. (2016). Retrieved December 28, 2016, from <http://www.who.int/dietphysicalactivity/es/>

Ormsbee, M., Lox, J., & Arciero, P. (2013). Beetroot juice and exercise performance. *Nutrition and Dietary Supplements*, 27. <https://doi.org/10.2147/NDS.S52664>

Pinna, M., Roberto, S., Milia, R., Marongiu, E., Olla, S., Loi, A., ... Crisafulli, A. (2014). Effect of Beetroot Juice Supplementation on Aerobic Response during Swimming. *Nutrients*, 6(2), 605–615. <https://doi.org/10.3390/nu6020605>

Rabeh, M.N., e Ibrahim, E.M. Antihypercholesterolic effect of beet (*Beta vulgaris L.*)root waste extract on hypercholesteromic rats and antioxidant potential properties. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2014; 13(9):500-505.

Radak, Z., Chung, H. Y., Koltai, E., Taylor, A. W., & Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews*, 7(1), 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2007.04.004>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Reddy, M. K., Alexander-Lindo, R. L., & Nair, M. G. (2005). Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 9268–9273. <https://doi.org/10.1021/jf051399j>

Roberts, C. K. (2002). Effect of Diet and Exercise Intervention on Blood Pressure, Insulin, Oxidative Stress, and Nitric Oxide Availability. *Circulation*, 106(20), 2530–2532. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000040584.91836.0D>

- Sakelliou A., Fatouros I. G., Athanailidis I., et al., (2016). Evidence of a Redox-Dependent Regulation of Immune Responses to Exercise-Induced Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2016, Article ID 2840643, 19 pages, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2840643>.
- Satoh, T., McKercher, S. R., & Lipton, S. A. (2014). Reprint of: Nrf2/ARE-mediated antioxidant actions of pro-electrophilic drugs. *Free Radical Biology & Medicine*, 66, 45–57. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.11.002>
- Segura, J. (2003). Efectos de la dieta y el ejercicio sobre la presión arterial, insulinemia, estrés oxidativo y disponibilidad de óxido nítrico. *Hipertensión Y Riesgo Vascular*, 20(2), 86–87.
- Szaefer, H., Krajka-Kuźniak, V., Ignatowicz, E., Adamska, T., & Baer-Dubowska, W. (2014). Evaluation of the effect of beetroot juice on DMBA-induced damage in liver and mammary gland of female Sprague-Dawley rats. *Phytotherapy Research: PTR*, 28(1), 55–61. <https://doi.org/10.1002/ptr.4951>
- Tesoriere, L., Fazzari, M., Angileri, F., Gentile, C., & Livrea, M. A. (2008). In Vitro Digestion of Betalainic Foods. Stability and Bioaccessibility of Betaxanthins and Betacyanins and Antioxidative Potential of Food Digesta. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10487–10492. <https://doi.org/10.1021/jf8017172>
- Vulić, J. J., Čebović, T. N., Čanadanović-Brunet, J. M., Četković, G. S., Čanadanović, V. M., Djilas, S. M., & Tumbas Šaponjac, V. T. (2014). In vivo and in vitro antioxidant effects of beetroot pomace extracts. *Journal of Functional Foods*, 6, 168–175. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.10.003>
- Wink, D. A., Miranda, K. M., Espey, M. G., Pluta, R. M., Hewett, S. J., Colton, C., ... Grisham, M. B. (2001). Mechanisms of the antioxidant effects of nitric oxide. *Antioxidants & Redox Signaling*, 3(2), 203–213. <https://doi.org/10.1089/152308601300185179>

Wootton-Beard, P. C., Moran, A., & Ryan, L. (2011). Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin–Ciocalteu methods. *Food Research International*, *44*(1), 217–224. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.10.033>

Wylie, L. J., Bailey, S. J., Kelly, J., Blackwell, J. R., Vanhatalo, A., & Jones, A. M. (2016). Influence of beetroot juice supplementation on intermittent exercise performance. *European Journal of Applied Physiology*, *116*(2), 415–425. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3296-4>