

Functionality of a watermelon juice enriched with L-citrulline: technical development and effect *in vivo*

Funcionalidad de un zumo de sandía enriquecido en L-citrulina: desarrollo tecnológico y valoración de sus efectos *in vivo*

B. Fernández-Lobato^{*1,2}, A. Martínez-Sánchez¹, E. Aguayo¹

¹ Institute of Plant Biotechnology - IBV. UPCT. Campus Muralla del Mar s/n. 30202. Cartagena, Spain.

²Servicio de Farmacia. Hospital General Universitario Santa Lucía, Cartagena, Spain.

Abstract

Watermelon is a rich natural source of L-citrulline (CIT). This is a non-essential amino acid (aa) synthesized endogenously in the intestinal mucus. Recent research has attributed important health properties to CIT. This compound is a precursor of L-arginine, which is a substrate for endogenous production of nitric oxide (NO) linked with positive effects in sport performance. Moreover, CIT is a urea cycle intermediate which contributes to the removal of ammonium ions via conversion to urea. The accumulation of ammonia is a determining factor in muscle fatigue and decreased sport performance. The purpose of this study is to evaluate the influence of watermelon juice enriched in CIT in enhanced sport performance and/or post-exercise recovery in aerobic and anaerobic exercises. Thus, the Rating of Perceived Exertion (RPE) immediately after exercise and Delayed-onset Muscle Soreness (DOMS) immediately after, 24, 48 and 72 hours after exercise will be evaluated. Additionally, plasma concentrations of biochemical markers related to muscle damage during sport activity will be studied.

Keywords: Ergogenic aids; functional food; sport performance; muscle fatigue; nitric oxide.

Resumen

La sandía es una fuente natural rica en L-citrulina (CIT). Este aminoácido (aa) no esencial se sintetiza endógenamente en la mucosa intestinal. En los últimos años, CIT ha despertado un especial interés por ser precursor de la biosíntesis de L-arginina, sustrato para la producción endógena de óxido nítrico (NO) al cual se le ha atribuido un efecto positivo en el rendimiento deportivo. Además, es un aa intermediario metabólico del ciclo de la urea hepático que contribuye a la eliminación del ión amonio en forma de urea. La acumulación de amonio ha sido relacionada con la aparición de la fatiga muscular y, por ello, con la disminución del rendimiento deportivo. El objetivo de este estudio consiste en evaluar la influencia del zumo de sandía enriquecido o no en CIT en la mejora del rendimiento deportivo y recuperación posterior, tras la realización de ejercicios físicos tanto aeróbicos como anaeróbicos. Con este fin, se determinará la percepción subjetiva del esfuerzo realizado al finalizar el ejercicio y la percepción subjetiva del dolor muscular al finalizar el ejercicio y a las 24, 48 y 72 horas. Adicionalmente, se evaluarán las concentraciones plasmáticas de los marcadores bioquímicos relacionados con el daño muscular.

Palabras clave: Suplementos ergogénicos; alimento funcional; rendimiento deportivo; fatiga muscular; óxido nítrico.

* E-mail: babiferlo@gmail.com

1. INTRODUCCIÓN

En los años 80, nace en Japón el término de alimentos funcionales, introduciéndose así un nuevo concepto de alimentos, que se desarrollaron específicamente para mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. La definición precisa recoge que un alimento puede considerarse funcional si se demuestra satisfactoriamente que ejerce un efecto beneficioso sobre una o más funciones selectivas del organismo, además de sus efectos nutritivos intrínsecos, de modo tal que resulte apropiado para mejorar el estado de salud y bienestar, reducir el riesgo de enfermedad, o ambas cosas [1]. Los alimentos funcionales deben seguir siendo alimentos, deben consumirse dentro de una dieta sana y equilibrada; y deben demostrar sus efectos en las mismas cantidades en las que normalmente se consumen en la dieta. Actualmente, la industria alimentaria comercializa un gran número de alimentos funcionales siendo el sector deportivo un posible nicho de mercado. En este contexto, el presente estudio evaluará el efecto del consumo de un zumo de sandía cuya funcionalidad residirá en la concentración de CIT. El nombre de CIT procede de la palabra latina para denominar a la sandía (*Citrullus vulgaris*), dicho compuesto se aisló por primera vez en 1930 [2]. La sandía es una fuente natural rica en CIT, su riqueza puede variar desde 0,7 hasta 6 g/kg de peso fresco, presentando una mayor cantidad la corteza respecto a la pulpa [3,4].

CIT es un aminoácido no esencial que se sintetiza endógenamente en la mucosa intestinal a partir de glutamina y otros aminoácidos derivados. Desde el enterocito se libera hacia la circulación sanguínea y posteriormente se metaboliza en riñón, de forma que el 83% de la citrulina plasmática se convierte en L-arginina [5], el cual es sustrato endotelial para la producción endógena de óxido nítrico (NO) mediante la enzima óxido nítrico sintasa (NOS). NOS cataliza una reacción enzimática compleja, que a partir de L-arginina y oxígeno conduce a la formación de NO y CIT como subproducto [6]. En fisiología del deporte, se piensa que los suplementos de NO pueden ser una ayuda ergogénica para aumentar el rendimiento deportivo [7]. Este hecho se basa en la evidencia de que el NO es un importante modulador del flujo sanguíneo, del metabolismo de la energía muscular, y de la respiración mitocondrial durante el ejercicio físico [6].

Estudios clínicos en voluntarios humanos sanos [8,9], demostraron que al administrar suplementos de L-arginina y CIT, los suplementos de CIT fueron más eficaces para incrementar la concentración plasmática de arginina que la propia arginina. Los suplementos de L-arginina sólo presentan un 60% de biodisponibilidad, debido a que sufren un elevado metabolismo por las enzimas esterases del intestino delgado y del hígado. En cambio, la CIT no es metabolizada por estas enzimas. Además, dosis altas (dosis única > 10 g) de arginina u ornitina inducen efectos secundarios gastrointestinales mientras que CIT es bien tolerado incluso a dosis únicas altas >15 g. Este hecho puede explicarse a que arginina y ornitina, a elevadas dosis, producen una rápida saturación de su absorción intestinal, quedando atrapados en la luz intestinal sin ser absorbidos e inducen diarreas osmóticas, en cambio la absorción intestinal no es un factor limitante en la biodisponibilidad de CIT [10].

Otro aspecto interesante, es que la CIT al no ser un aminoácido proteico, no interviene en la síntesis de proteínas. CIT es un intermediario metabólico del ciclo de la urea, cuya función es la eliminación del excedente del ión amonio generado en la degradación de los aminoácidos y otros compuestos nitrogenados [2]. La utilización metabólica de las proteínas como fuente de energía para sustentar una actividad física intensa está limitada por la toxicidad del ión amonio y la necesidad de eliminarlo en forma de urea. Córdova et al. [11] demostraron que la suplementación con CIT a ciclistas semi-profesionales mejoraba el funcionamiento del ciclo de urea durante y después de un ejercicio físico intenso, facilitando la absorción energética de las proteínas; así como favoreciendo la síntesis de NO e incrementando la oxigenación del tejido hipóxico durante un periodo de tiempo prolongado.

Por otro lado, el ejercicio físico agudo produce rupturas de miofibrillas musculares provocando daño muscular. Este daño produce fatiga muscular que limita el rendimiento, disminuyendo la fuerza, el pico de potencia o la velocidad. La fatiga muscular es dependiente de la intensidad del esfuerzo y, en particular, del tipo de ejercicio físico realizado. Por tanto, la

valoración de marcadores bioquímicos relacionados con el daño muscular resulta de gran interés incluso para el control del entrenamiento, ya que además de aportarnos información de la utilización de ciertas rutas metabólicas también informan sobre la destrucción muscular durante la actividad deportiva y permite determinar el tipo de esfuerzo [12].

El objetivo principal de estos estudios *in vivo*, realizados en deportistas, se centra en evaluar la funcionalidad del zumo de sandía enriquecido en CIT, en el rendimiento físico y posterior recuperación, tras practicar una actividad deportiva intensa, tanto aeróbica como anaeróbica. Para abordar esta investigación se evaluarán parámetros deportivos y marcadores bioquímicos relacionados con el daño muscular.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Bebidas

Se evaluarán diferentes zumos de sandía, cuya diferencia residirá en la concentración de CIT. El enriquecimiento en CIT se realizará de forma exógena incorporándose en el zumo elaborado. Las diferentes dosis de CIT se establecerán en referencia a ensayos previos realizados por el grupo de investigación y referencias bibliográficas. Para la elaboración de los zumos se utilizará la variedad Fashion, por ser una de las variedades con mayor contenido en CIT. La pasteurización de los zumos y su posterior envasado en botellas individuales se realizará en condiciones industriales. Como placebo se utilizará una bebida de similares características sensoriales al del zumo de sandía, pero exenta de CIT.

2.2 Diseño del estudio con voluntarios

Cada experimento tendrá el diseño de un ensayo cruzado, aleatorio y doble ciego, existiendo tantos días de prueba como número de tratamientos, y distanciándose los días de prueba deportiva con tiempo suficiente para la recuperación del voluntario. El efecto del zumo sandía será evaluado tanto en pruebas deportivas aeróbicas como anaeróbicas. Se seleccionarán un mínimo de 20 voluntarios sanos, según los criterios de inclusión establecidos, que habitualmente practiquen el tipo de disciplina deportiva a evaluar. Todos ellos tendrán que manifestar su decisión de participar mediante consentimiento informado. En cada uno de los días de prueba, 1 ó 2 horas antes del ejercicio físico, cada voluntario ingerirá un tipo de bebida (placebo o zumo de sandía o zumo de sandía enriquecido en CIT). Se estudiará el rendimiento deportivo determinándose, en todos los voluntarios, la frecuencia cardiaca, la duración en realizar la prueba, el RPE y DOMS (tras el ejercicio y a las 24, 48 y 72 h). La RPE se determina mediante la "Escala de Esfuerzo Percibido de Borg" y el DOMS mediante una escala de dolor muscular con puntuación desde 1 (sin dolor) a 5 (dolor máximo con incapacidad física en un entrenamiento inmediato). Cada voluntario será sometido a varias analíticas sanguíneas: antes de las pruebas deportivas (nivel basal), inmediatamente después del ejercicio (post-ejercicio) y transcurridas 24, 48 y 72 horas de la finalización del ejercicio. En estas analíticas se evaluará la arginina, enzimas relacionadas con el daño muscular (aspartato-aminotransferasa, alanina-aminotransferasa, lactato deshidrogenasa, creatinquinasa), lactato, proteína C reactiva, creatinina, mioglobina y ferritina, urea, ácido úrico, colesterol y glucosa.

3. RESULTADOS ESPERADOS

Con los resultados obtenidos en cada una de las disciplinas deportivas, se pretende conocer la influencia de la CIT en el rendimiento deportivo y en la actividad metabólica, así como, averiguar la dosis mínima de CIT que permita la recuperación posterior del deportista.

4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos se pretenden publicar en revistas de elevado índice de impacto para obtener los correspondientes indicios de calidad y finalizar de este modo la Tesis Doctoral.

5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece a las empresas AMC Juices & Drink y a la Asociación Grupo Fashion (AGF) la colaboración recibida para realizar estos estudios.

6. REFERENCIAS

- [1] Ozen, A.E., Pons, A., Tur, J.A. (2012). Worldwide consumption of functional foods: a systematic review. *Nutr. Rev.* 70(8), 472-481.
- [2] Curis, E., Nicolis, I., Moinard, C., Osowska, S., Zerrouk, N., Bénazeth, S., Cynober, L. (2005). Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids* 29, 177-205.
- [3] Mandel, H., Levy, N., Izkovitch, S., Korman, S. H. (2005). Elevated plasma citrulline and arginine due to consumption of *Citrullus vulgaris* (watermelon). *J. Inherit. Metab. Dis.* 28, 467-472.
- [4] Tarazona-Díaz, M.P, Alacid, F., Carrasco, M., Martínez, I., Aguayo, E. (2013). Watermelon juice: a potential functional drink for enhancing anaerobic performance and relieve muscle soreness in athletes. *J. Food Chem.* 61, 7522-7528.
- [5] Blasco-Alonso, J., Sánchez-Yáñez, P., Rosa Camacho, V., Camacho Alonso, J. M., Yahyaoui Macías, R., Gil-Gómez, R., & Milano Manso, G. (2015). La cinética de la citrulina y la arginina y su valor como factor pronóstico en pacientes pediátricos críticamente enfermos. *Anales de Pediatría* 83(4), 257-263.
- [6] Suzuki, T., Morita, M., Kobayashi, Y., Kamimura, A. (2016). Oral L-citrulline supplementation enhances cycling time trial performance in healthy trained men: Double-blind randomized placebo-controlled 2-way crossover study. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 13, 1-8.
- [7] Bescós, R., Sureda, A., Tur, J. A., Pons, A. (2012). The effect of Nitric-Oxide-Related Supplements on human performance. *Sports Med.* 42(2), 99-117.
- [8] Hickner, R.C., Tanner, C.J., Evans, C.A., Clar, P.D., Haddock, A., Fortune, C., Geddis, H., Waugh, W., Mccammon, M. (2006). L-Citrulline reduces time to exhaustion and insulin response to a graded exercise test. *Med. Sci. Sport Exer.* 38, 660-666.
- [9] Schwedhelm, E., Maas, R., Freese, R., Jung, D., Lukacs, Z., Jambrecina, A., Spickler, W., Schulze, F., Böger, R.H. (2008). Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of oral L-citrulline and L-arginine: impact on nitric oxide metabolism. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 65, 51-59.
- [10] Moinard, C., Nicolis, I., Neveux, N., Darquy, S., Benazeth, S., Cynober, L. (2008). Dose-ranging effects of citrulline administration on plasma amino acids and hormonal patterns in healthy subjects: the Citrudose pharmacokinetic study. *Br J Nutr.* 2. 99, 855-886.
- [11] Córdova, A., Sureda, A., Tauler, P., Ferrer, M.D., Villa, G., Tur, J.A., Pons, A. (2005). Efectos de la citrulina sobre la producción de óxido nítrico y la eliminación del nitrógeno de las proteínas durante una actividad física intensa. *Arch. Med. Deporte* 22, 497-498.
- [12] Urdampilleta, A., Martínez-Sanz, J.M., López-Grueso, R. (2013). Valoración bioquímica del entrenamiento: herramienta para el dietista-nutricionista deportivo. *Rev. Esp. Nutr. Hum. Diet.* 17, 73-83.