



TESIS DOCTORAL

TETRASELMIS CHUII Y RENDIMIENTO DEPORTIVO

ÁNGEL GABRIEL GARCÍA RODRÍGUEZ

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMARCADORES DE SALUD Y
ESTADOS PATOLÓGICOS**

Conformidad del director/a y codirector

Marcos Antonio Maynar Mariño

Ignacio Bartolomé Sánchez

Esta tesis cuenta con la autorización del director/a y codirector/a de la misma y de la Comisión Académica del programa. Dichas autorizaciones constan en el Servicio de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad de Extremadura.

2023

In Memoriam

El presente trabajo de tesis doctoral está dedicado al Dr. D. Julio Montero Arroyo. Gracias por tu motivación diaria, por tu forma de ser, por tus enseñanzas y por tu confianza incondicional en mí desde los inicios, marcaste mi vida.

Cambiaste mi forma de pensar en muchos aspectos, me ayudaste a relativizar los problemas vitales y a aprender que la motivación, la humildad y el esfuerzo debe ser la base humana que sustente a cualquier investigador.

Siempre me pesará el no poder haberme despedido de ti.

Con todo mi corazón, te doy las gracias por las grandes vivencias y conocimientos que me has aportado.

Hasta siempre Julito, tu recuerdo siempre me proporcionará sonrisas y aprendizajes.

“El individuo ha luchado siempre para no ser absorbido por la tribu. Si lo intentas, a menudo estarás solo y a veces asustado, pero ningún precio es demasiado alto por el privilegio de ser uno mismo”

Fiedrich Nietzsche

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Manuela y José Ángel, por haber creado las bases sobre las que se sustenta mi parte más elemental, por haberme escuchado siempre, por haber traído a casa amor todos los días de mi vida, por haberme guiado siempre que lo he necesitado, por haber confiado plenamente en mi desde que existo, por haberme apoyado en absolutamente todos mis objetivos vitales, motivándome y haciéndome creer en mí día tras día, por darme el mayor ejemplo de vida, de resiliencia y de constancia bajo cualquier circunstancia.

A mi abuela Manuela, por haber actuado desde que nací como una madre, confiando en mí, cuidándome, apoyándome, enseñándome y motivándome a conseguir mis objetivos.

A Cati, por haber sido siempre un pilar fundamental en mi vida, por haberme guiado, enseñado y ayudado desde el corazón cada vez que lo he requerido.

Una gran parte de este trabajo es gracias a ella.

A mi pareja María, por representar la base de mi día a día, por estar siempre ahí en los mejores y en los peores momentos, por tu paciencia y tu tolerancia, por ayudarme a conseguir mis metas, por sumar siempre en mi vida, por haberme enseñado tanto y por haber aparecido en el momento más necesario.

A mis compañeros María, Paco, Chule, Mario y Toro por haberme acogido en el laboratorio desde mis inicios como a uno más, por haberme motivado y por haberme ayudado desinteresadamente en todo lo que he necesitado, de corazón, gracias.

Especialmente a mi codirector Nacho, por ser más que un compañero, un hermano científico y considerarlo como parte de mi familia. Por haber confiado en mí y haberme escuchado desde que era un estudiante de segundo año, por haberme enseñado tanto en todos los aspectos de mi vida, por poder contar con él bajo cualquier circunstancia y, sobretodo, por actuar siempre desde el corazón, con esa transparencia, esa naturalidad y esa humildad que te caracterizan, todas las palabras que escriba aquí son pocas para describir lo afortunado que me siento de que hayas aparecido en mi vida.

Y, definitivamente, a mi director, Marcos. Por ser mi referente científico y médico, por haberme inculcado tantos valores en tan poco tiempo, como la humildad, la generosidad y la pasión por la investigación, por haber despertado

y potenciado mi instinto de la curiosidad, por haberme impulsado en cualquiera de mis decisiones académicas, por confiar en mi motivación y en mis ganas de aprender desde el primer momento sin contemplar una sola calificación del expediente académico, por haber construido mi pensamiento científico-fisiológico y por haber sido el detonante de uno de mis proyectos de vida más importantes, la Medicina. Es muy difícil explicar con palabras la admiración y todo lo que se siente al poder trabajar con tu referente, simplemente, gracias por hacer todo esto posible.

ÍNDICES

INDEXES

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	21
ABSTRACT AND KEYWORDS	22
1. INTRODUCCIÓN	27
1.1. LAS AYUDAS ERGOGÉNICAS EN EL DEPORTE: CONTEXTUALIZACIÓN.....	27
1.2. LA CONDICIÓN FÍSICA: CONCEPTO Y SU RELACIÓN CON EL RENDIMIENTO DEPORTIVO Y LA SALUD.	28
1.3. EL RENDIMIENTO FÍSICO-DEPORTIVO.....	29
1.4. LAS MICROALGAS: BASES BIOLÓGICAS.	50
1.5. BASES FARMACOCINÉTICAS Y FARMACODINÁMICAS APLICADAS AL CONSUMO HUMANO DE MICROALGAS.	65
1.6. TETRASELMIS CHUII: CARACTERÍSTICAS, COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA Y ESTADO ACTUAL.....	152
1.7. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	159
2. MATERIAL Y MÉTODOS.	165
2.1 GENERALIDADES DE LA INTERVENCIÓN.	165
2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	173
2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	189
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	193
3.1 . EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON <i>TETRASELMIS CHUII</i> SOBRE LOS PARÁMETROS HORMONALES Y HEMATOLÓGICOS.....	194
3.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON <i>TETRASELMIS CHUII</i> SOBRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS.....	236
3.3 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON <i>TETRASELMIS CHUII</i> SOBRE LOS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS, ERGOESPIROMÉTRICOS Y DE CONDICIÓN FÍSICA.....	245
3.4 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON <i>TETRASELMIS CHUII</i> EN FUNCIÓN DE LAS DOSIS INGERIDAS.....	294
4. CONCLUSIONES.	301
5. LIMITACIONES, PROSPECTIVAS DE FUTURO Y APLICACIONES PRÁCTICAS.....	307
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	313
7. ANEXOS.....	401

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. GENERALIDADES TAXONÓMICAS DE LAS MICROALGAS MÁS ESTUDIADAS.....	52
TABLA 2. CONTINUACIÓN DE GENERALIDADES TAXONÓMICAS DE LAS MICROALGAS MÁS ESTUDIADAS.....	53
TABLA 3. PRINCIPALES PÉPTIDOS BIOACTIVOS DE CARÁCTER ANTIHIPERTENSIVO.....	133
TABLA 4. COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA GENERAL DEL LIOFILIZADO DE TC PROCEDENTE DE LA EMPRESA FITOPLACTON MARINO S.L.....	155
TABLA 5. AMINOGRAMA DEL LIOFILIZADO DE TC PROCEDENTE DE LA EMPRESA FITOPLACTON MARINO S.L.....	155
TABLA 6. COMPOSICIÓN MINERAL DEL LIOFILIZADO DE TC PROCEDENTE DE LA EMPRESA FITOPLACTON MARINO S.L.....	156
TABLA 7. COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DEL LIOFILIZADO DE TC PROCEDENTE DE LA EMPRESA FITOPLACTON MARINO S.L.....	156
TABLA 8. COMPOSICIÓN VITAMÍNICA DEL LIOFILIZADO DE TC PROCEDENTE DE LA EMPRESA FITOPLACTON MARINO S.L.....	156
TABLA 9. PORCENTAJE DEL PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DEL LIOFILIZADO DE TC PROCEDENTE DE LA EMPRESA FITOPLACTON MARINO S.L.....	157
TABLA 10. CARACTERIZACIÓN BASAL DE LA MUESTRA.....	171
TABLA 11. VALORES DEL REGISTRO NUTRICIONAL RECOGIDOS A LO LARGO DE LA INVESTIGACIÓN.....	193
TABLA 12. CONCENTRACIONES HORMONALES DURANTE EL TRANCURSO DE LAS EVALUACIONES.....	195
TABLA 13. VALORES DE LA SERIE ROJA SANGUÍNEA A LO LARGO DEL PERÍODO EXPERIMENTAL.....	218
TABLA 14. VALORES DE LA SERIE BLANCA Y PLAQUETARIA DURANTE EL PERIODO EXPERIMENTAL.....	225
TABLA 15. VALORES BIOQUÍMICOS DE LOS PARTICIPANTES A LO LARGO DE LAS EVALUACIONES.....	237

TABLA 16. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES ANTROPOMÉTRICOS A LO LARGO DE LA INVESTIGACIÓN.	247
TABLA 17. EVOLUCIÓN DE LAS PRESIONES ARTERIALES A LO LARGO DEL PERÍODO EXPERIMENTAL.	259
TABLA 18. EVOLUCIÓN DE LA FUERZA Y FLEXIBILIDAD A LO LARGO DE LAS EVALUACIONES.	264
TABLA 19. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES ERGOESPIROMÉTRICOS BASALES DURANTE LAS EVALUACIONES DEL PERIODO EXPERIMENTAL.	272
TABLA 20. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES ERGOESPIROMÉTRICOS MÁXIMOS DURANTE LAS EVALUACIONES DEL PERÍODO EXPERIMENTAL.	281
TABLA 21. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES ERGOESPIROMÉTRICOS CORRESPONDIENTES CON EL UMBRAL AERÓBICO DURANTE LAS EVALUACIONES DEL PERÍODO EXPERIMENTAL.	284
TABLA 22. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES ERGOESPIROMÉTRICOS CORRESPONDIENTES CON EL UMBRAL ANAERÓBICO DURANTE LAS EVALUACIONES DEL PERÍODO EXPERIMENTAL.	285
TABLA 23. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES ERGOESPIROMÉTRICOS CORRESPONDIENTES CON LA RECUPERACIÓN DE 3' TRAS LA REALIZACIÓN DE LA PRUEBA DE ESFUERZO MÁXIMA.	291

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL FENÓMENO DE LA SUPERCOMPENSACIÓN.....	31
FIGURA 2. ESQUEMA DE LOS PRINCIPALES MECANISMOS ADAPTATIVOS AL ESTRÉS FISIOLÓGICO.....	36
FIGURA 3. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA ULTRAESTRUCTURA CELULAR DE UNA MICROALGA PROCARIOTA.	55
FIGURA 4. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA ULTRAESTRUCTURA CELULAR DE UNA MICROALGA EUCARIÓTICA.....	56
FIGURA 5. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE ALGUNOS DE LOS PRINCIPALES PROCESOS FISIOLÓGICOS QUE INFLUYEN EN LA BIODISPONIBILIDAD DE LOS COMPONENTES BIOACTIVOS CONTENIDOS EN LAS MICROALGAS CUANDO ESTAS SON INGERIDAS POR VÍA ORAL.....	67
FIGURA 6. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS PROCESOS DE DIGESTIÓN, ABSORCIÓN Y TRANSPORTE DE LOS LÍPIDOS PROCEDENTES DE LA DIETA... ..	70
FIGURA 7. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE LAS PROTEÍNAS POR EL ENTEROCITO.....	75
FIGURA 8. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA ABSORCIÓN INTESTINAL DE LOS PÉPTIDOS BIOACTIVOS....	79
FIGURA 9. MÉDULA ÓSEA CON HEMATOPOYESIS ACTIVA.....	88
FIGURA 10. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS PRINCIPALES PROCESOS HEMATOPOYÉTICOS.....	90
FIGURA 11. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA ERITROPOYESIS.	93
FIGURA 12. FOTOMICROGRAFÍA DE LAS PLACAS DE PEYER	100
FIGURA 13. . REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DE LA RESPUESTA INMUNE... ..	105
FIGURA 14. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL PROCESO DE OPSONIZACIÓN Y FAGOCITOSIS DE LOS AGENTES PATÓGENOS	107
FIGURA 15. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL PROCESO INMUNE INTEGRADO.	109

FIGURA 16. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS POSIBLES EFECTOS DE LA DIETA SOBRE EL MICROBIOMA INTESTINAL..	111
FIGURA 17. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA ESTRUCTURA BÁSICA DE UNA LIPOPROTEÍNA.	116
FIGURA 18. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL METABOLISMO DE LOS QUILOMICRONES.	117
FIGURA 19. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DEL CICLO CELULAR DEL RECEPTOR APO-E.	119
FIGURA 20. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL TRANSPORTE INVERSO DEL COLESTEROL.	121
FIGURA 21. LOCALIZACIÓN DE LOS PRINCIPALES TEJIDOS ENDOCRINOS....	125
FIGURA 22. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LOS PRINCIPALES MECANISMOS DE ACCIÓN HORMONALES....	126
FIGURA 23. ESQUEMA DEL EJE NEUROENDOCRINO HIPOTALÁMICO-HIPOFISIARIO.....	129
FIGURA 24. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE ALGUNAS REACCIONES PRINCIPALES DE LA PEROXIDACIÓN LIPÍDICA.....	140
FIGURA 25. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LAS PRINCIPALES ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO Y SUS SISTEMAS DE DETOXIFICACIÓN....	143
FIGURA 26. . REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA EVOLUCIÓN DEL RIESGO DE PADECER UNA INFECCIÓN DE LAS VÍAS RESPIRATORIAS ALTAS (IVRA) EN FUNCIÓN DE LA CARGA DEL ENTRENAMIENTO.....	149
FIGURA 27. REPRESENTACIÓN GRÁFICA DE LA ULTRAESTRUCTURA CELULAR DE UNA MICROALGA DE <i>TETRASELMIS SPP</i>	152
FIGURA 28. ESQUEMA GENERAL DEL DISEÑO CORRESPONDIENTE CON EL PROTOCOLO EXPERIMENTAL DE LA INTERVENCIÓN.....	167
FIGURA 29 ESQUEMA GENERAL MODIFICADO DE LAS CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES DE CADA FASE DEL MODELO TRIFÁSICO DE SKINNER Y MCLLEAL.....	188

ABREVIATURAS

NOMENCLATURES

LISTADO DE ABREVIATURAS

ACAT2: enzima colesterol acetiltransferasa tipo 2.	IL-17: interleucina 17
ACTH: hormona adrenocorticotropa	IL-18: interleucina 18
AGPI: ácidos grasos poliinsaturados.	IL-33: interleucina 33
AGPI n-3: ácidos grasos poliinsaturados omega 3	IL-4: interleucina 4
AGPI n-6: ácidos grasos poliinsaturados omega 6	INF γ : interferón gamma
C: cortisol	IRS-1: receptor de la insulina
CAT: catalasa	LDL: lipoproteína plasmática de baja densidad
CR: coeficiente respiratorio	LDL-ox: lipoproteína plasmática de baja densidad oxidada
DHA: ácido docosahexaenoico	LH: hormona luteinizante.
eNOS: enzima óxido nítrico sintasa endotelial	LPL: lipoproteína lipasa
EPA: ácido eicosapentaenoico	MRF: factores reguladores miogénicos.
EPO: eritropoyetina	MEC: matriz extracelular
ERH: elementos de respuesta a hormonas esteroides	mTOR: proteína diana de rapamicina de mamíferos.
ERKs: quinasas de respuesta extracelular	mTORC1: complejo 1 de la proteína diana de rapamicina en mamíferos
ERO: especie radiactiva de oxígeno	Nrf: factor nuclear derivado de eritroide
FA: flexibilidad anterior	ON: óxido nítrico
FC: frecuencia cardíaca	PI3K/akt: vía de la fosfatidilinositol 3-quinasa
FGF-21: factor de crecimiento fibroblástico 21	PMD: fuerza de presión manual derecha
FP: flexibilidad posterior	PMI: fuerza de presión manual izquierda
FPR: fuerza isométrica máxima del tren inferior	PPAR γ : receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas
FPT: fuerza isométrica máxima de los músculos posteriores del tronco	RA: receptor de andrógenos
GGT: gamma glutamil transaminasa	SAPK: proteínas quinasas activadas por estrés
GH: hormona del crecimiento	SARS-CoV2: síndrome respiratorio agudo severo
GOT: transaminasas glutámico oxalacética	SIRT-1: sirtuina 1
GPT: transaminasa glutámico-pirúvica	SOD: superóxido dismutasa
GPX: glutatión peroxidasa	SREBP-1: elementos reguladores de los esteroides
HDL: lipoproteína plasmática de alta densidad	TLR: receptor de tipo toll
HIF-1: factor inductor inductor de hipoxia tipo 1.	TNF α : factor de necrosis tumoral alfa.
IgA: inmunoglobulina A	TNF β : factor de necrosis tumoral beta
IGF-1: factor de crecimiento 1 similar a la insulina.	TSC 2: complejo de esclerosis tuberosa 2
IGF1-R: receptor del factor de crecimiento tipo 1 similar a la insulina	VCO ₂ : volumen de dióxido de carbono absoluto
IL-1 β : interleucina 1 beta	VE: ventilación máxima pulmonar
IL-6: interleucina 6	VLDL: lipoproteína plasmática de muy baja densidad
IL-4: interleucina 4	VO ₂ : consumo de oxígeno absoluto
IL-10: interleucina 10	VO _{2/kg} : consumo de oxígeno relativo
IL-1: interleucina 1	4EBP1: factor eucariótico iniciador de la translocación
IL-35: interleucina 35	

RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

ABSTRACT AND KEYWORDS

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos de la suplementación con microalgas *Tetraselmis chuii* (TC) durante sesenta días sobre parámetros relacionados con la condición física, hematológicos, antropométricos, ergoespirométricos y hormonales en estudiantes varones sanos. Cuarenta y seis estudiantes divididos en un grupo placebo (GP; $n = 16$; $20,77 \pm 2,7$ años; $72,14 \pm 7,18$ kg; $1,76 \pm 0,07$ m) un grupo suplementado con 25 mg/día de TC (GS 25; $n = 15$; $20,40 \pm 1,40$ años; $71,28 \pm 8,26$ kg; $1,76 \pm 0,05$ m) y otro grupo suplementado con 200 mg/día de TC (GS 200; $n = 15$; $20,83 \pm 2,45$ años; $72,30 \pm 11,13$ kg; $1,77 \pm 0,08$ m) se incluyeron en el estudio a doble ciego. Por otra parte, los participantes incluidos en el GP ingirieron 200 mg/día de lactosa en polvo. Los individuos se sometieron a 4 evaluaciones (basal, mes 1, mes 2 y desadaptación) separadas en el tiempo por un intervalo de treinta días. En el GS 25 y el GS 200 se observaron incrementos significativos ($p < 0,05$) de: porcentaje de masa muscular, eritropoyetina (EPO), factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), testosterona libre (TES), leucocitos, neutrófilos, linfocitos. En estos grupos también se produjeron disminuciones ($p < 0,05$) de los niveles de: porcentaje de masa grasa, plaquetas, hematocrito, plaquetocrito y hemoglobina corpuscular media, así como cambios favorables en diversos parámetros ergoespirométricos y de condición física relacionados con el rendimiento físico-deportivo. Además, la suplementación con TC indujo efectos beneficiosos sobre distintas variables antropométricas, hematológicas y hormonales.

PALABRAS CLAVE

Microalgas, anabolizante, sistema inmune, fuerza, $VO_{2m\acute{a}x}$, presión arterial, eritropoyesis, recuperación, rendimiento deportivo.

ABSTRACT

The aim of this work was to evaluate the effects of *Tetraselmis chuii* (TC) microalgae supplementation for sixty days on physical fitness, hematological, anthropometric, ergo-spirometric and hormonal parameters in healthy male students. Forty-six students divided into a placebo group (PG; n = 16; 20.77 ± 2.7 years; 72.14 ± 7.18 kg; 1.76 ± 0.07 m) a group supplemented with 25 mg/day of TC (SG 25; n = 15; 20.40 ± 1.40 years; 71.28 ± 8.26 kg; 1.76 ± 0.05 m) and another group supplemented with 200 mg/day TC (SG 200; n = 15; 20.83 ± 2.45 years; 72.30 ± 11.13 kg; 1.77 ± 0.08m) were included in the double-blind study. On the other hand, the participants included in the PG ingested 200 mg/day of lactose powder. Individuals underwent 4 evaluations (baseline, month 1, month 2 and desadaptation) separated in time by an interval of thirty days. At SG 25 and SG 200, significant (p<0.05) increases were observed in: muscle mass percentage, erythropoietin (EPO), insulin-like growth factor 1 (IGF-1), free testosterone (TES), leukocytes, neutrophils, lymphocytes. In these groups there were also decreases (p<0.05) in the levels of: percentage of fat mass, platelets, hematocrit, plateletocrit and mean corpuscular hemoglobin, as well as favorable changes in various ergo-spirometric and physical condition parameters related to physical-sports performance. In addition, TC supplementation induced beneficial effects on different anthropometric, hematological and hormonal variables.

KEYWORDS

Microalgae, anabolic, immune system, strength, VO₂max., blood pressure, erythropoiesis, recovery, sports performance.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCTION

1. INTRODUCCIÓN

1.1. LAS AYUDAS ERGOGÉNICAS EN EL DEPORTE: CONTEXTUALIZACIÓN.

La competición deportiva existe desde hace miles de años. Sin embargo, dos denominadores comunes perfilan a los grandes atletas de todos los tiempos: el éxito y la victoria. La toma de diversas sustancias y alimentos con el fin de mejorar el rendimiento físico es una práctica conocida desde los años 500-400 a.C., cuando los guerreros y atletas consumían órganos de poderosos animales, como el león, para obtener un mayor desempeño físico (Applegate y Grivetti, 1997).

Las elevadas exigencias actuales en el ámbito del rendimiento deportivo y las potentes ambiciones personales de nuestros tiempos, llevan a muchos atletas amateurs y profesionales a embarcarse en un largo viaje de búsqueda dentro del controvertido y casi interminable mundo de las ayudas ergogénicas, muchas veces, con el objetivo de lograr más de lo que pueden conseguir con sus propios esfuerzos.

Las ayudas ergogénicas se definen como el empleo de cualquier medio con la finalidad de incrementar la producción energética, así como de optimizar sus sistemas de control. Estas ayudas se aplican con el objetivo de lograr una mejora del rendimiento físico-deportivo. Dentro de este concepto tan amplio se enmarca una infinidad de metodologías. Entre ellas, se encuentra la suplementación deportiva (Palacios y cols., 2019).

A medida que ha avanzado la tecnología nutricional los científicos han podido sintetizar y fabricar la gran mayoría de nutrientes conocidos y muchos de sus subproductos metabólicos con funciones clave sobre la fisiología humana. La base esencial de la suplementación deportiva es la teorización de que muchas de estas sustancias poseen potencial ergogénico cuando se toman en ciertas cantidades o formas que normalmente no se encuentran en los alimentos o dietas convencionales.

Esta continua búsqueda por mejorar el rendimiento físico-deportivo ha llevado al ser humano incluso a explorar en las profundidades marinas con el optimismo de encontrar poderosos compuestos que puedan elevar el desempeño físico. Este es el caso de las enigmáticas microalgas, microorganismos unicelulares con una privilegiada composición que al ser consumidos por el ser humano pueden ejercer multitud de efectos fisiológicos

desencadenados por mecanismos celulares, muchos de los cuales, se desconocen todavía (Samarakoon y Jeon, 2012).

La esencia de esta tesis doctoral es la compleja indagación en potenciales explicaciones fisiológicas que puedan vincular el consumo humano de una desconocida microalga denominada *Tetraselmis chuii* (TC) con posibles efectos sobre el rendimiento físico-deportivo.

1.2. LA CONDICIÓN FÍSICA: CONCEPTO Y SU RELACIÓN CON EL RENDIMIENTO DEPORTIVO Y LA SALUD.

La condición física constituye el núcleo central de conocimiento sobre el que se sustentan las bases teóricas y prácticas de las ciencias de la actividad física y del deporte.

El concepto de condición física (CF) hace referencia al potencial físico de un individuo, representado por un estado fisiológico inducido por el entrenamiento de sus componentes. Dichos componentes se denominan capacidades físicas básicas y son las siguientes (Bompa, 2017; Valert, 1992):

- La fuerza.
- La resistencia.
- La flexibilidad.
- La velocidad.

El entrenamiento sistemático y global de las capacidades físicas constituye el acondicionamiento físico general y forma los cimientos sobre los que se construye cualquier destreza física.

El concepto de la condición física ha ido evolucionando a lo largo del tiempo y se ha ido incluyendo en diferentes ámbitos progresivamente. De esta manera, actualmente representa un elemento trascendental en los campos de la salud y del rendimiento físico-deportivo (Schulenkorf y Siefken, 2019).

En el ámbito sanitario, la condición física ha adquirido una gran relevancia en los últimos años. Existe un inmenso cuerpo de evidencias científicas que relacionan un buen estatus de condición física con la prevención de diversas patologías. Además, el entrenamiento individualizado de las capacidades físicas básicas se ha incluido como una herramienta indispensable en el marco terapéutico de muchas enfermedades con altas prevalencias epidemiológicas; tales como: las patologías cardiorrespiratorias, las

enfermedades de carácter neuroendocrino o el cáncer (Iaccarino y cols., 2020; Sellami y Bragazzi, 2021).

Por otra parte, el área del rendimiento físico-deportivo siempre ha mantenido una estrecha relación con la condición física. Los deportes en su esencia más simplista constituyen combinaciones de capacidades físicas básicas cuyas contribuciones son diferentes en función de la disciplina deportiva (Bompa, 2017; Platonov, 2001).

1.3. EL RENDIMIENTO FÍSICO-DEPORTIVO.

1.3.1. Contextualización y concepto de rendimiento físico-deportivo.

Durante las últimas décadas se ha producido una importante aplicación de los principios científicos a los deportes y al ejercicio. La transferencia científica al deporte es particularmente evidente en el área de la fisiología. Los fisiólogos del ejercicio han establecido los techos de las respuestas fisiológicas humanas y los factores que limitan el rendimiento físico-deportivo en distintas condiciones.

El rendimiento físico en los diferentes eventos competitivos depende estrechamente de la integridad de los sistemas fisiológicos del deportista. Por ello, el estado de salud y la capacidad de respuesta fisiológica frente a la situación competitiva junto con diversas variables ambientales, psicológicas, técnicas y tácticas, determinan en gran medida el desempeño de los atletas en los acontecimientos competitivos. En esta línea, una gran parte del rendimiento-físico deportivo que alcancen los atletas depende del desarrollo de las respuestas fisiológico-metabólicas a través del entrenamiento deportivo. Consecuentemente, uno de los objetivos principales de la fisiología del ejercicio es evaluar y monitorizar la preparación físico-deportiva de manera precisa y efectiva (Draper, 2014; Joyner y Coyle, 2008).

El rendimiento deportivo se podría definir como los resultados que consigue un deportista poniendo en marcha todos sus recursos aprovechables. Por esta razón, es esencial que los preparadores físicos y los científicos del deporte consideren el rendimiento deportivo como un parámetro global e integral. De este modo, cuanto mayor sea el abanico de recursos que puedan ser utilizados de una manera eficiente y eficaz, más posibilidades se obtienen de incrementar el rendimiento del deportista (Bishop, 2012; Raglin, 2012).

Muchos son los factores que pueden influir sobre el rendimiento deportivo favoreciéndolo o mermándolo. Estos factores varían en función del tipo de deporte practicado. En este sentido, desde hace mucho tiempo en el campo científico – deportivo, se han realizado importantes esfuerzos por dilucidar dichos factores estableciendo múltiples estrategias metodológicas que permitan medirlos y llevar el conocimiento científico a la práctica deportiva de una forma exitosa.

Ante la globalidad conceptual del rendimiento deportivo, con el fin de mejorar la comprensión del área de conocimiento relacionada con la presente tesis doctoral, en los próximos apartados se desarrollan los aspectos del rendimiento físico-deportivo exclusivamente asociados con el ámbito de la fisiología y el entrenamiento.

1.3.2. La teoría y metodología del entrenamiento deportivo: el fenómeno de la supercompensación

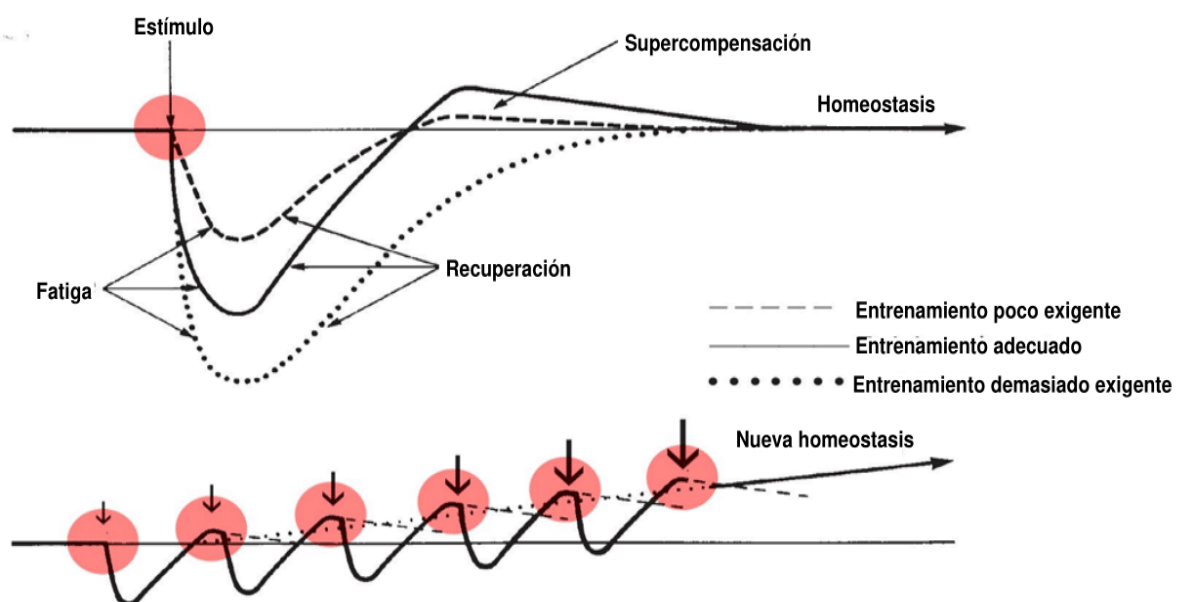
La teoría y la metodología del entrenamiento constituyen un conjunto de conocimientos que emanan de diferentes áreas científicas auxiliares y que asientan los principios básicos del entrenamiento físico-deportivo. Esta teoría representa la herramienta fundamental en la que se debe sustentar la planificación del entrenamiento de cualquier deportista, independientemente de la disciplina que practique. Gran parte del rendimiento del deportista se encuentra directamente relacionado tanto con la calidad científica del entrenamiento como con su periodización temporal (Glazier, 2017; Platonov, 2001).

La base real de la teoría de la periodización deportiva surgió a través de los principios establecidos por el síndrome de adaptación general, propuesto por Selye en 1946. De acuerdo con este modelo, la primera etapa de respuesta a cualquier agente estresante se aprecia como un shock. Posteriormente, surge una nueva fase de supercompensación en la cual el organismo se adapta para desarrollar ciertas habilidades afectadas por un estresor particular. Con el tiempo, el organismo puede entrar en una fase terminal llamada de mala adaptación, de fatiga no compensada o agotamiento, si el factor estresante persiste. De ahí que en sus inicios esta teoría se desarrollara con la intención de contrarrestar los efectos de la fase terminal, que podría llevar al deportista a un estado de sobreentrenamiento (Selye, 1946; Platonov, 2001).

Uno de los principios más elementales relacionados con el rendimiento deportivo que aporta esta teoría es el principio de la supercompensación. La supercompensación es un

fenómeno resultante de los procesos adaptativos del organismo humano tras someterse a estímulos continuados que rompen la homeostasis celular. Ante estos estímulos disruptivos, como el entrenamiento, el organismo responde regenerándose a un mayor nivel. Así, al aplicar regularmente una carga de entrenamiento adecuada junto con una recuperación óptima se producen adaptaciones metabólicas, cardiovasculares, neuromusculares y psicológicas que trasladan al deportista a un nivel de rendimiento físico mayor en comparación con el que inició el entrenamiento. Esto constituye el objetivo principal de la periodización de cualquier entrenamiento deportivo, es decir, aumentar el rendimiento deportivo a través de la inducción de respuestas supercompensatorias en los diferentes sistemas fisiológicos de los deportistas (Bompa y Buzzichelli, 2017; Cunanan y cols., 2018; Mukhopadhyay, 2022).

Figura 1. Representación gráfica del fenómeno de la supercompensación



Representación esquemática de las diferentes fases por las que se compone el fenómeno de la supercompensación. Esquema modificado a partir del trabajo de Mukhopadhyay, 2022.

Tal y como se ilustra en la figura 1, en términos generales, el ciclo de supercompensación se divide en estas 4 fases (Bompa y Buzzichelli, 2017; Platonov, 2001):

- Fase 1. Tras los estímulos disruptivos provocados por el entrenamiento, todos ellos de carácter catabólico, los sistemas fisiológicos se fatigan con la correspondiente sintomatología en el deportista (temblores, apatía, debilidad...) y la ruptura de la homeostasis celular. Una buena parte de esta fase se debe a las

exigencias metabólicas y neuromusculares del entrenamiento que implican una depleción de las reservas energéticas, así como de los sistemas reguladores.

- Fase 2. Durante la recuperación o compensación, las reservas energéticas se reestablecen, incluso superando sus niveles normales. Esta fase se caracteriza por el entorno anabólico determinado por los diferentes ejes neuroendocrinos y actividades enzimáticas, particularmente de los compartimentos histológicos que se han sometido al esfuerzo.
- Fase 3. En esta fase tiene lugar la supercompensación propiamente dicha en la que, tras la compensación completa del organismo, se desencadenan unos niveles de adaptación fisiológica más elevados que al inicio. Esto se refleja en un aumento de la eficiencia deportiva.
- Fase 4. En caso de que el deportista no se someta a un estímulo en el intervalo temporal óptimo, cuyo mejor momento se da en la fase 3, aparece el proceso de involución que constituye un déficit de los beneficios logrados en la fase de supercompensación.

El intervalo temporal en el que se alcanza la supercompensación varía en función de la capacidad física entrenada, así como de la fluctuación de las distintas variables del entrenamiento (intensidad, volumen y densidad). En este aspecto, las sesiones orientadas a la resistencia aeróbica requieren entre 6 y 8 horas para que pueda tener lugar la supercompensación de los sistemas fisiológicos. No obstante, entrenamientos con elevadas demandas neuromusculares pueden necesitar hasta 72 horas para lograr la supercompensación biológica con garantías (Bompa y Buzzichelli, 2017; Evans y Hughes, 1985; Marrier y cols., 2017) .

Cuando el deportista ha alcanzado la supercompensación adopta un nuevo nivel de homeostasis. Como consecuencia, al introducir otro estímulo estresante, el próximo fenómeno de supercompensación comienza desde el nuevo punto homeostático (Mukhopadhyay, 2022; Wada y cols., 2020) .

Para que los atletas se beneficien de los efectos fisiológicos de la supercompensación, la curva de compensación debe superar los valores homeostáticos iniciales. De este modo, al añadir sistemáticamente entrenamientos físicos de alta intensidad con niveles elevados de fatiga multisistémica antes de alcanzar la nueva homeostasis, los beneficios fisiológicos de la supercompensación no pueden tener lugar con éxito. En este caso, el deportista incrementa el riesgo de sufrir el síndrome de sobreentrenamiento, lo que

dificulta significativamente el alcance de los picos de rendimiento físico programados durante la temporada (Bompa y Buzzichelli, 2017; Mukhopadhyay, 2022; Platonov, 2001).

Definitivamente, para maximizar los niveles de cualquier capacidad física, la comprensión del fenómeno supercompensatorio es crucial. Esto podría implicar potentes mejoras en el rendimiento deportivo de los atletas y paralelamente minimizar los riesgos de padecer el síndrome de sobreentrenamiento.

1.3.3. Bioquímica del rendimiento físico-deportivo.

Desde una perspectiva biológica, el entrenamiento deportivo representa la adaptación del organismo a condiciones de mayor actividad de las células musculares. Esta adaptación puede conseguirse como resultado de sucesivos cambios en los tejidos, que se extienden desde niveles citológicos y metabólicos hasta niveles fisiológicamente integrales. De forma conjunta, todos estos cambios permiten el aumento de la capacidad del trabajo físico y, en definitiva, del rendimiento deportivo.

Las modificaciones metabólicas en el cuerpo humano relacionadas con la actividad muscular se han estudiado durante más de un siglo. Sin embargo, no es hasta la última mitad del siglo XX cuando la bioquímica comienza a jugar un rol fundamental brindando información precisa a los entrenadores y médicos deportivos sobre las modificaciones metabólicas producidas durante las sesiones de entrenamiento, las competiciones y los diversos períodos de la temporada (Dirix y cols., 1989).

Este hecho ha marcado definitivamente el camino histórico del deporte mejorando la comprensión de las respuestas fisiológicas de los atletas. Desde entonces, todos estos conocimientos se han aplicado en numerosos ámbitos del mundo deportivo y han provocado la aparición de nuevas estrategias farmacológicas, nutricionales y de monitorización que han permitido maximizar el rendimiento físico-deportivo de los atletas hasta niveles que parecían inalcanzables hace unas décadas (Dasgupta, 2021; David y cols., 2000).

Actualmente, la monitorización bioquímica constituye una parte esencial del control del entrenamiento deportivo. Consiste en el registro de parámetros metabólicos y/o hormonales que permiten obtener información más profunda sobre los procesos adaptativos en el organismo de un deportista. Este proceso es un elemento clave que posibilita vigilar y periodizar el entrenamiento deportivo con una gran precisión

científica, lo cual consolida las bases del entrenamiento científico (Maclaren y Morton, 2012).

La adaptación fisiológica al entrenamiento deportivo depende especialmente de las relaciones bidireccionales entre las funciones de las células y sus maquinarias genéticas. Asimismo, muchas de las respuestas adaptativas consisten en la intensificación de los procesos de biosíntesis endógena. En este aspecto, ha sido ampliamente evidenciado que el entrenamiento puede incrementar la formación de todo tipo de material celular, incluyéndose desde las mitocondrias, el retículo sarcoplasmático y las proteínas miofibrilares hasta el espesor de las motoneuronas y el número de ramificaciones nerviosas terminales (Chicharro y López, 2006; Maclaren y Morton, 2012). Además, la optimización de los procesos enzimáticos es esencial para que puedan tener lugar dichos cambios. En este contexto, se ha demostrado suficientemente que el entrenamiento puede aumentar la actividad y la cantidad de las diversas enzimas encargadas de los procesos biosintéticos y oxidativos (Holloszy, 1975).

Gracias a las respuestas adaptativas producidas por el entrenamiento, los sustratos energéticos presentes en el músculo esquelético pueden aumentar sus concentraciones e incluso es posible optimizar sus sistemas de transporte celular, que permiten la movilización de los mismos al interior de la célula muscular y aprovecharlos como fuente energética para el movimiento humano (Chicharro y López, 2006; Holloszy, 1975; Platonov, 2001). Consecuentemente, todos estos procesos biológicos conducen a la supercompensación bioenergética, la cual favorece tanto a los mecanismos de síntesis de proteínas musculares que requieren gran cantidad de ATP como a la recuperación de los tejidos alterados por el entrenamiento, permitiendo a los deportistas alcanzar un nuevo punto homeostático superior (Bompa, 2017).

En consonancia con lo anterior, un único estímulo de estrés físico puede originar un efecto bioquímico agudo que desaparece con rapidez. Sin embargo, cuando se aplica un estímulo físico tardío, después de que las huellas fisiológicas del primer agente estresor hayan desaparecido completamente, no se produce la suma de modificaciones bioquímicas requeridas para que se den los mecanismos supercompensatorios (Bompa, 2017; Marrier y cols., 2017; Wada y cols., 2020). Como consecuencia, para desarrollar respuestas adaptativas crónicas, el proceso de entrenamiento debe ser repetitivo provocando un efecto acumulativo por parte de todos los cambios bioquímicos producidos que posibilita alcanzar las respuestas supercompensatorias deseadas. No

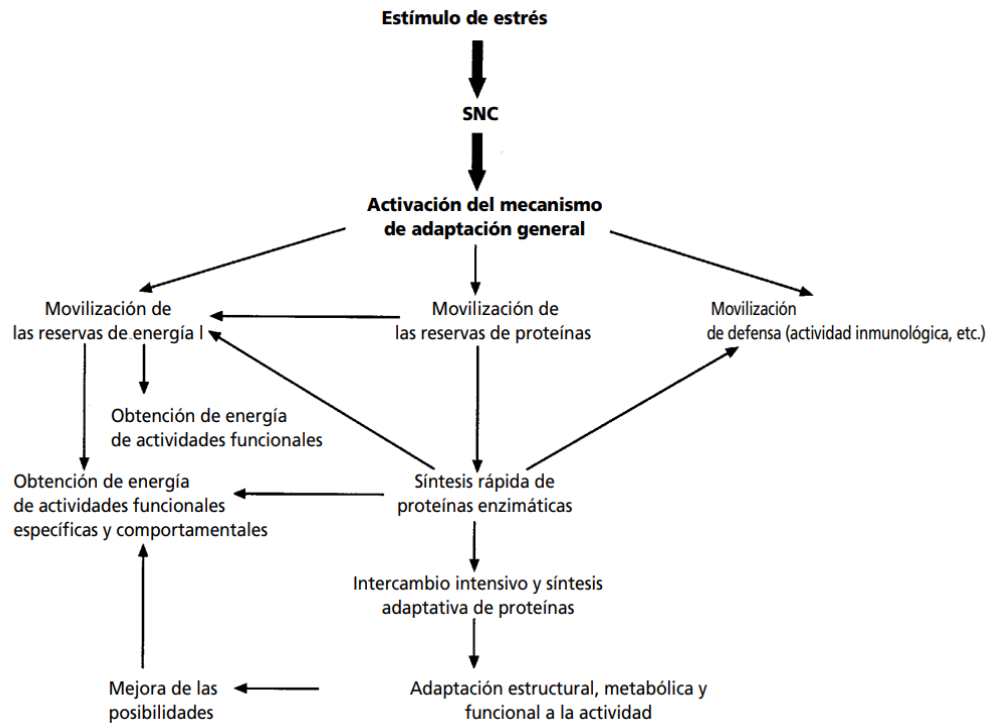
obstante, llevar a cabo este proceso conlleva una serie de riesgos para los deportistas, como el sobreentrenamiento (Verkhoshansky, 2000).

Así, la preparación física de cualquier atleta constituye un complejo y delicado proceso donde los profesionales del deporte, apoyados en los principios fisiológicos y bioquímicos, deben calcular con exactitud las dosis de trabajo y de descanso que requieren sus deportistas para que alcancen el máximo nivel posible de rendimiento físico-deportivo.

Todos estos cambios bioquímicos se encuentran muy vinculados al mundo de la nutrición deportiva. El incremento de los procesos oxidativos y el consumo energético durante la actividad muscular necesita inequívocamente una estrategia de recuperación adecuada en la que se repongan los mayores gastos de macronutrientes y micronutrientes demandados por el ejercicio físico (Close y cols., 2016). Los procesos bioquímicos causados por el entrenamiento deportivo constituyen la base científica de la nutrición deportiva (Bompa, 2017). Por lo tanto, la prescripción de cualquier ayuda ergogénica de carácter nutricional, incluidas las microalgas que son tratadas en posteriores apartados, debe obedecer a los principios bioquímicos que rigen las adaptaciones y las respuestas fisiológicas al entrenamiento deportivo (Verkhoshansky, 2000). Estos hechos constituyen una de las principales líneas conceptuales del presente manuscrito.

En definitiva, todos los avances científicos y tecnológicos surgidos en las últimas décadas han conducido hacia el nacimiento del entrenamiento científico. De este modo, a través de la aplicación de todos los hallazgos y conocimientos adquiridos, numerosos investigadores y profesionales del deporte se han interesado por descubrir cuáles son los factores cruciales que pueden determinar los niveles del rendimiento físico-deportivo alcanzados por los atletas (Platonov, 2001; Verkhoshansky, 2000). Dichos factores constituyen los factores de rendimiento deportivo cuyos fundamentos se describen en las próximas líneas.

Figura 2. Esquema de los principales mecanismos adaptativos al estrés fisiológico.



Representación esquemática de los principales mecanismos adaptativos de carácter bioquímico que inducen los cambios fisiológicos favorables para el rendimiento físico deportivo. Tomado de Viru y cols, 2003.

1.3.4. Factores del rendimiento deportivo.

Los factores del rendimiento deportivo se pueden definir como aquellos elementos cruciales para obtener resultados deportivos exitosos en una determinada modalidad deportiva. Los factores de rendimiento fisiológicos se encuentran vinculados con las características fisiológico–metabólicas del deporte practicado. Estas características varían en función del tipo de deporte (Glazier, 2017; Raglin, 2012).

Existen multitud de factores de rendimiento deportivo con diferentes naturalezas (psicológica, fisiológica, técnica, táctica...). Con el objetivo de simplificar este inmenso campo, en este apartado se abordan los factores que pueden afectar al rendimiento deportivo desde una perspectiva fisiológica.

Generalmente, los deportes que poseen más necesidades aeróbicas se caracterizan por mayores volúmenes y menores intensidades totales. Contrariamente, los deportes con altas demandas anaeróbicas se distinguen por menores volúmenes y mayores intensidades globales. Este hecho condiciona la existencia o la predominancia de diferentes factores

fisiológicos de rendimiento físico-deportivo en función de la disciplina deportiva (Cometti, 2007; Lehmann y cols., 1997).

A continuación, se desglosan los factores del rendimiento físico-deportivo más comunes y con mayor cuerpo de evidencia científica en el área de la fisiología del ejercicio:

Consumo máximo de Oxígeno (VO_2 máx)

- Concepto.

El concepto de VO_2 máx hace referencia a la tasa máxima de O_2 que el organismo es capaz de absorber, distribuir y utilizar por unidad de tiempo. Cualquier incremento del metabolismo con respecto al nivel basal induce un aumento del consumo de oxígeno de los tejidos. En este sentido, el esfuerzo muscular es el estímulo que genera mayores demandas de oxígeno (Chicharro y López, 2006; Klusiewicz, 2011).

Existen fuertes variaciones interindividuales en los niveles de VO_2 máx puesto que sus valores están sujetos a los siguientes factores básicos:

- **Edad.** En la población sedentaria por lo general el VO_2 máx. se incrementa progresivamente hasta los 25 años, reduciéndose gradualmente una vez se alcanza esta edad. No obstante, en personas entrenadas se puede llegar a conservar este techo fisiológico durante más tiempo (Chicharro y López, 2006; Sutton, 1992).
- **Sexo.** Existen diferencias considerables del VO_2 máx. entre sexos. El mayor peso magro de los hombres así como diversos parámetros de carácter cardiovascular, hormonal y hematológico podrían explicar el mayor VO_2 máx. de los hombres con respecto a las mujeres (Lee y Zhang, 2021; Sparling, 2013).
- **Composición corporal.** El tejido muscular es el compartimento histológico que más consumo de oxígeno requiere. Por ello, los valores de VO_2 máx. se vinculan proporcionalmente con el peso magro de los individuos (Chicharro y López L. M., 2006; A. N. Shete y cols., 2014).
- **Nivel de entrenamiento.** Ha sido ampliamente registrado que mediante el entrenamiento se pueden maximizar los niveles de VO_2 máx.. Los valores máximos alcanzados varían en función del grado de entrenamiento basal de los sujetos, llegándose a registrar mejoras de hasta un 20% en individuos inicialmente sedentarios que se han sometido a un entrenamiento físico (Burnley y Jones, 2007; Roca y cols., 1992; Sutton, 1992).

- **Dotación genética.** Recientemente se ha demostrado que la influencia de los efectos fisiológicos mediados por distintos genes podría establecer diversas limitaciones biológicas en el VO_2 máx. desde el nacimiento. Los genes ACE, ACSL1, COL5A1 y PPARA tienen, individualmente, un pequeño impacto pero la combinación entre ellos podría ejercer un efecto total del 2% al 7 % sobre los valores máximos de VO_2 máx.. Además, otros genes codificantes para los componentes de la cadena respiratoria mitocondrial así como para las distintas proporciones de fibras musculares se han señalado como determinantes para el VO_2 máx. (Badertscher, 2020; Chicharro y López, 2006).

Para que el O_2 atmosférico pueda ser utilizado en la fosforilación oxidativa, debe llegar a la mitocondria. A través de una multitud de sistemas y transportadores, el O_2 acaba su destino en este complejo e interesante orgánulo celular. De esta manera, cada uno de los pasos que el O_2 sigue, podría representar un impedimento potencial para el flujo del mismo (Burnley y Jones, 2007; Sutton, 1992).

En primer lugar, el sistema respiratorio puede constituir un factor limitante de los valores máximos del consumo de oxígeno. Aún no se han dilucidado con precisión pero existen indicios de que en ciertos individuos muy entrenados durante esfuerzos extenuantes el flujo sanguíneo corre a gran velocidad por la unidad alveolar sin dar tiempo suficiente para llevar a cabo un intercambio gaseoso efectivo, debido al elevado gasto cardíaco y al potencial de eyección del ventrículo izquierdo (Chicharro y López, 2006; Sutton, 1992).

En segundo lugar, otra de las limitaciones se encuentra relacionada con la capacidad de transporte de O_2 sanguíneo. En este aspecto, la hemoglobina constituye el elemento más determinante. La hemoglobina es una proteína globular localizada en el interior de los eritrocitos cuya función esencial es el transporte de O_2 hacia los diferentes tejidos. Su composición consta de cuatro cadenas polipeptídicas unidas cada una de ellas a un grupo hemo, caracterizado por transportar un átomo de O_2 . Es decir, cada molécula de hemoglobina transporta cuatro átomos de O_2 (Ahmed y cols., 2020). Por ello, todas las variables que afecten tanto a sus concentraciones como a la curva de disociación con el oxígeno podrían modificar los valores de VO_2 máx. (Chicharro y López, 2006; Sutton, 1992).

En tercer lugar, en relación con la función cardiovascular, ha sido demostrado que el gasto cardíaco (GC) es uno de los factores más condicionantes de los niveles de VO_2 máx. (Sutton, 1992). El gasto cardíaco constituye el producto de la frecuencia cardíaca (FC) y el volumen sistólico (VS) (Hall, 2020). Se ha aceptado que los sujetos entrenados especialmente en disciplinas de resistencia aeróbica poseen frecuencias cardíacas más bajas para una misma tasa de esfuerzo submáximo fijo en comparación con personas desentrenadas (Chicharro y López, 2006; Plews y cols., 2013).

En consonancia con las anteriores consideraciones, se han proporcionado observaciones consistentes que evidencian la existencia de elevados volúmenes sistólicos en atletas de resistencia, debido a las adaptaciones fisiológicas generadas por el entrenamiento físico en el tejido miocárdico. De este modo, el corazón adquiere una mayor capacidad de bombeo. Así, se ha evidenciado que el GC se halla directamente correlacionado con el VO_2 máx., estimándose que entre el 70% y el 85% de la limitación del VO_2 máx. se relaciona con el gasto cardíaco máximo (Calbet y cols., 2007; Chicharro y López, 2006; Wilmore y Costill, 2015).

Durante un esfuerzo incremental máximo llega un momento en el que el GC se estabiliza a pesar de aumentar la intensidad del ejercicio. Este fenómeno es denominado “fenómeno de meseta” (Calbet y cols., 2007; Chicharro y Lopez, 2006; Wilmore y Costill, 2015). El origen de este acontecimiento viene determinado por la limitación del flujo coronario a intensidades muy elevadas, provocándose una meseta en el flujo sanguíneo miocárdico. En ciertas intensidades, al no poderse irrigar más el miocardio, el corazón no puede adaptarse bombeando más fuerte (Brickley y cols., 2002; Wilmore y Costill, 2015). Sería lógico pensar que esto podría desencadenar una isquemia miocárdica. Sin embargo, se alcanza antes la extenuación debido a mecanismos de control autónomos (Hall, 2020). Además, se ha demostrado la posibilidad de que a intensidades muy elevadas podrían existir sistemas de compensación autónomos que producirían una vasoconstricción refleja, mermando el flujo de oxígeno a los tejidos y consecuentemente a las células musculares (Chicharro y López, 2006; Hall, 2020).

Estos tres factores mencionados se clasifican dentro de los factores limitantes centrales. Adicionalmente, cabe resaltar la existencia de diversos factores limitantes periféricos. Los más importantes son: los niveles de enzimas mitocondriales y la densidad capilar.

Con respecto a los niveles de enzimas mitocondriales, los fisiólogos han realizado un amplio trabajo para examinar si estos constituyen un factor limitante del $\text{VO}_2 \text{ máx.}$ En el interior de las fibras musculares, las mitocondrias son los orgánulos donde se consume el O_2 en el paso final de la cadena de transporte de electrones (Hall, 2020). Teóricamente, si se duplicara el número de mitocondrias se debería duplicar el número de lugares para la captación del O_2 en el músculo (Holloszy y Coyle, 1984; Lee y Zhang, 2021). Sin embargo, los estudios en humanos demuestran que aumentando hasta 2,2 veces las enzimas mitocondriales solo existiría un aumento del 20% al 40% del $\text{VO}_2 \text{ máx.}$ (Bassett y Howley, 2000). Esto concuerda con la visión de que el $\text{VO}_2 \text{ máx.}$ medido durante el ejercicio dinámico está más limitado por el suministro de oxígeno que por las mitocondrias musculares aunque, indudablemente, las mitocondrias también contribuyan al VO_2 consumido (Chicharro y López, 2006).

En este sentido, se ha verificado que los individuos entrenados disponen de unos mecanismos mitocondriales más potentes que los sujetos sedentarios, por lo que poseen mayor capacidad de utilización del O_2 celular (Bassett y Howley, 2000). Por lo tanto, los niveles enzimáticos mitocondriales podrían limitar en mayor medida el $\text{VO}_2 \text{ máx.}$ de los deportistas con respecto a personas no entrenadas (Chicharro y López, 2006).

Por otra parte, es interesante recalcar que las potentes adaptaciones mitocondriales inducidas por el entrenamiento de la resistencia pueden permitir que ejercicios ejecutados al mismo ritmo de trabajo produzcan alteraciones homeostáticas menores en los músculos entrenados. Esto se observa, especialmente, a través de dos efectos metabólicos relacionados con la optimización mitocondrial (Bassett y Howley, 2000):

- Una mayor tasa de beta-oxidación ahorrando así la glucosa sanguínea y el glucógeno muscular.
- Una reducción de la producción de lactato durante el ejercicio.

Estas adaptaciones son importantes pues explican muchas de las mejoras del rendimiento en resistencia, generadas gracias al entrenamiento y sin tener que estar directamente relacionadas con el $\text{VO}_2 \text{ máx.}$

Por otra parte, ha sido avalado por la ciencia que la densidad capilar puede aumentar como mecanismo adaptativo al entrenamiento de resistencia y a la hipoxia tisular (Hoier y Hellsten, 2014). Este incremento de capilares alarga el tiempo medio de tránsito sanguíneo en el músculo esquelético, por lo que se podría extraer más O_2 de la circulación

periférica. De este modo, aunque existan altas tasas de flujo sanguíneo muscular, debidas al ejercicio, podría tener lugar un mantenimiento e incluso un incremento de la fracción de O_2 utilizada por el miocito (Chicharro y López, 2006; Wilmore y Costill, 2015).

La clase de factores, periféricos o centrales, que limitan el $VO_{2\text{ máx.}}$ varía en función del tipo de esfuerzo físico. En los ejercicios específicos donde el GC no es máximo existe un predominio de los factores limitantes periféricos. Contrariamente, en los esfuerzos globales que requieran fuertes aumentos del GC predominan los factores limitantes centrales (Bassett y Howley, 2000).

- Aplicaciones del $VO_{2\text{ máx.}}$ en el rendimiento deportivo.

Desde una perspectiva fisiológica, el $VO_{2\text{ máx.}}$ se corresponde con la potencia aeróbica y es uno de los parámetros más conocidos y utilizados desde hace décadas para predecir el rendimiento físico en los deportes de resistencia (Burnley y Jones, 2007).

Es lógico pensar que un aumento de la eficiencia fisiológica en la utilización del O_2 podría desencadenar un incremento del rendimiento físico. Por ello, el $VO_{2\text{ máx.}}$ se ha considerado un determinante fisiológico esencial en el contexto del rendimiento deportivo. No obstante, en deportistas de alto nivel con valores de $VO_{2\text{ máx.}}$ similares, este parámetro pierde correlación con el rendimiento físico-deportivo (Ghosh, 2004). Esta situación se describe con mayor profundidad en el próximo apartado.

El umbral anaeróbico

Concepto

El umbral anaeróbico (UAN) se define como el consumo de oxígeno por encima del cual la producción de energía aeróbica se complementa en gran medida con mecanismos anaeróbicos, provocando un aumento significativo de las concentraciones de lactato (Ghosh, 2004; Wilmore y Costill, 2015). El UAN posee potentes implicaciones funcionales puesto que es una zona de trabajo fisiológica por encima de la cual la acidosis metabólica acelera la estimulación de la respiración disminuyendo la tolerancia al ejercicio físico (Skinner y McLellan, 1980).

Muchos autores se han interesado por el concepto del UAN y existe una gran cantidad de publicaciones en torno a este fenómeno fisiológico. Así, el UAN ha sido definido a través de diferentes terminologías y las hipótesis que han girado alrededor de este concepto han ido variando a lo largo de los años (Ghosh, 2004). Aunque poseen

metodologías de determinación diferentes, bajo el concepto de UAN se han englobado términos como el umbral de lactato (UL), el umbral anaeróbico ventilatorio (UANV), máximo estado estable de lactato (MLSS), punto de deflexión de la frecuencia cardíaca y otros tantos términos que por motivos de extensión no se nombran en esta tesis doctoral. Todos estos métodos se aplican sobre el mismo momento metabólico, el UANV (Chicharro y López, 2006; Ghosh, 2004).

En este apartado se analizan específicamente el UL y el UANV, debido a la gran repercusión que han tenido desde hace décadas en la literatura científica y a sus altos niveles de evidencia.

El UL representa el punto en el que las concentraciones de lactato rompen la linealidad registrándose un aumento repentino de sus concentraciones durante un esfuerzo máximo de carácter incremental (Faude y cols., 2009). Estos incrementos del lactato podrían estar causados por: una inhibición de sus mecanismos de eliminación, un aumento de las vías anaeróbicas de producción energética o una combinación de ambos. Se acepta la combinación de los dos procesos como la hipótesis principal del umbral láctico, aunque esta cuestión no se ha resuelto aún con precisión (Ghosh, 2004).

Por otra parte, el concepto de UANV es uno de los más empleados en el mundo del alto rendimiento deportivo actualmente. La ventilación alveolar se acopla al flujo de CO₂ circulante, lo que conduce al mantenimiento de la isocapnia arterial durante el ejercicio moderado. Sin embargo, a medida que aumenta la intensidad del ejercicio, los iones de hidrógeno liberados del ácido láctico ya no pueden ser amortiguados por las reservas del tampón bicarbonato sanguíneo, induciéndose la aparición de la acidosis metabólica (Sales y cols., 2019). Este entorno acidótico estimula los quimiorreceptores centrales y periféricos, los cuales señalizan hacia el centro respiratorio encefálico que promueve un aumento de la ventilación pulmonar (Skinner y McLellan, 1980). Por ello, el punto en el que la linealidad de la ventilación cambia drásticamente durante un ejercicio incremental máximo constituye el UANV (Chicharro y López, 2006).

Ha sido evidenciado que el UANV y el UL coinciden en el tiempo (Neary y cols., 1985). De acuerdo con esto, no se han verificado diferencias significativas entre la estimación del UAN a través del UANV o del UL (Ghosh, 2004). Por lo tanto, el empleo de un método u otro varía en función de las preferencias y los medios económicos, según los costes, de los deportistas y clubes.

Aplicaciones del UAN en el rendimiento deportivo.

La evaluación de la transición aeróbica – anaeróbica se emplea de forma rutinaria en el mundo del rendimiento deportivo con diversos objetivos: realizar el seguimiento del deportista en ciertos momentos de la temporada, hacer modificaciones en el entrenamiento en caso de ser necesario, obtener parámetros para la individualización del entrenamiento y examinar la capacidad aeróbica funcional del deportista (Kindermann y cols., 1979; Svedahl y Macintosh, 2011).

Actualmente la monitorización de la transición aeróbica – anaeróbica a través de protocolos de esfuerzo constituye uno de los estándares de oro para determinar la capacidad de resistencia (Svedahl y MacIntosh, 2011).

En relación con el anterior apartado, el VO_2 máx. se consideró durante muchos años como el mejor parámetro para evaluar la resistencia. Sin embargo, esto no explicaría por qué en esfuerzos físicos de moderada y larga duración, deportistas con similares valores de VO_2 máx., obtienen capacidades de resistencia distintas. Esta situación se encuentra determinada por la “posición” del UAN, momento ubicado previamente al VO_2 máx. en el registro ergoespirométrico, y por otros aspectos como la fuerza muscular y la velocidad (Ghosh, 2004).

Al retardar la aparición del UAN, los deportistas pueden realizar un mayor porcentaje de su trabajo metabólico minimizando la acumulación de lactato, con los consecuentes beneficios fisiológicos que esta situación otorga sobre el VO_2 máx. Como consecuencia, la determinación del VO_2 máx. ha adquirido una gran relevancia para evaluar el rendimiento físico en pruebas cortas extenuantes con una duración de 3 a 10 minutos. Contrariamente, la determinación del UAN constituye una manera precisa de evaluar la capacidad de resistencia en pruebas con duración moderada (10 – 30 minutos) o larga (> 30 minutos). Esto implica que la valoración del VO_2 máx. de manera aislada no aporta datos suficientes para valorar la capacidad de resistencia de una manera precisa (Beattie y cols., 2014a; Chicharro y López, 2006; Ghosh, 2004).

Además del UAN existen otros factores como la fuerza y la velocidad que diferencian el rendimiento deportivo de atletas incluso con similares UAN y niveles de VO_2 máx. (Saunders y cols., 2004). Estos se detallan a continuación.

La fuerza

Concepto

Numerosos autores a lo largo de los tiempos han intentado definir la fuerza. Para Verkhoshansky, “la fuerza es el producto de una acción muscular iniciada y sincronizada por procesos eléctricos en el sistema nervioso”(Yury Verkhoshansky, 2000). Aunque la fuerza es un concepto de elevada complejidad podría simplificarse concibiendo la contracción muscular como la parte más esencial de su mecanismo, cualquier nivel de fuerza requiere la presencia de una contracción muscular (David y cols., 2000; Hall John, 2020). A su vez, la contracción muscular depende de multitud de variables: nerviosas, estructurales y endocrino – metabólicas (Cometti, 2007; Wilmore y Costill, 2015). Como es lógico, cualquier factor que interfiera en alguna de estas variables puede alterar los niveles de fuerza generados.

Históricamente, existen una infinidad de clasificaciones de la fuerza. Sin embargo, para la realización de la presente tesis doctoral se ha tenido en cuenta la desarrollada por Bartolomé, 2021(Bartolomé, 2021). Esta clasificación se basa en el tipo de contracción muscular y distingue los siguientes tipos de fuerza:

- Contracción muscular de intensidad máxima o casi máxima. Se pueden distinguir tanto la fuerza dinámica máxima en un régimen de trabajo dinámico como la fuerza isométrica máxima en un régimen de trabajo estático.
- Contracción muscular de velocidad máxima o casi máxima. Se distingue la fuerza explosiva en un régimen de trabajo dinámico.

Aplicación de la fuerza en el rendimiento deportivo

En el ámbito deportivo se ha utilizado la fuerza como herramienta metodológica desde hace décadas. Esto ha sucedido especialmente en los deportes predominantemente anaeróbicos, donde sus gestos técnicos requieren de elevados niveles de fuerza y velocidad. En estos tipos de disciplinas deportivas existe un consenso general entre autores sobre la esencialidad del trabajo de la fuerza muscular (Kraemer y Hakkinen, 2000).

No obstante, en los deportes con más predominio aeróbico la fuerza ha ido ocupando un lugar más importante gradualmente en los últimos años. Recientemente, en estas disciplinas se ha incluido el trabajo de la fuerza muscular con la finalidad de prevenir lesiones y de aumentar el rendimiento físico-deportivo tras conseguir una correcta base

física, así como un buen desarrollo integral de los sistemas fisiológicos de los atletas (Beattie y cols., 2014b; Verkhoshansky, 2000).

En el rendimiento deportivo de resistencia a menudo se ha considerado que la capacidad cardiovascular es el principal factor limitante del rendimiento. Consecuentemente, la preparación física de los deportes de resistencia se ha centrado generalmente en desarrollar el umbral aeróbico (UA), el UAN y los niveles de VO_2 máx. (Beattie y cols., 2014a). Sin embargo, en el deporte de élite se ha observado que dichos parámetros se encuentran maximizados de forma similar en gran parte de los atletas, por lo que las variables cardiovasculares no pueden explicar completamente el rendimiento físico-deportivo en resistencia (Beattie y cols., 2014b; Ghosh, 2004; Saunders y cols., 2004).

Actualmente diversos autores consideran la potencia muscular específica, medida en vatios (W), como un factor diferenciador para el rendimiento de resistencia en deportistas de élite. Los W representan el trabajo realizado por unidad de tiempo, es decir, se encuentran en íntima relación con los niveles de fuerza muscular (Beattie y cols., 2014b). De esta manera, se ha comprobado que los mejores deportistas poseen la capacidad de producir elevados W tras un período sostenido de ejercicio extenuante (Paavolainen y cols., 1999). Este hecho les permite obtener un desempeño físico diferenciador en los momentos clave de la competición (Paavolainen y cols., 2000; Rønnestad y Mujika, 2014).

De acuerdo con lo anterior, a partir de los W se han implementado numerosas variables para monitorizar y cuantificar el proceso de entrenamiento y el rendimiento competitivo de los deportistas. Es común que se relacionen los W con las diferentes zonas fisiológicas de entrenamiento así como con el peso corporal de los deportistas (potencia relativa) (Nimmerichter, 2018). Como consecuencia, la tendencia actual es valorar los W generados durante la zona de VO_2 máx. y el UAN constituyendo un criterio que, según algunos autores y preparadores físicos, discrimina mejor la excelencia entre los deportistas de élite en comparación con los marcadores ergoespirométricos aislados (Beattie y cols., 2014b; Elias y cols., 2021; Nimmerichter, 2018).

Sin embargo, es importante considerar que los W realmente constituyen una medida indirecta de la eficacia de la contracción muscular que, a su vez, también se encuentra condicionada por otros múltiples parámetros fisiológicos (Nimmerichter, 2018;

Verkhoshansky, 2000). Por ello, los entrenadores deben conocer el organismo humano desde un punto de vista integral ya que la correlación de los W con las zonas de entrenamiento puede fluctuar en diversos momentos de la temporada, debido a distintas variables como la elevación de los niveles de estrés o ansiedad, los microciclos de alto impacto que conlleven elevadas tasas de fatiga en el tiempo o el síndrome del sobreentrenamiento (Bompa, 2017; Halson y Jeukendrup, 2004). Desde una perspectiva fisiológica, estos casos son extremadamente delicados pues el tono simpático del sistema nervioso autónomo aumenta, pudiendo producirse cambios en la individualización de las intensidades de las zonas fisiológicas de entrenamiento que no pueden ser detectados a través de los W (Hedelin y cols., 2000). Por lo tanto, en dichas situaciones, los W no representan un medidor fisiológico fiable para monitorizar el entrenamiento, adquiriendo mayor relevancia otros marcadores como la frecuencia cardíaca (Black Johnson y Steven Thiese, 1992).

En definitiva, para maximizar los niveles del rendimiento físico-deportivo de cualquier atleta, los preparadores físicos deben conocer todo el arsenal metodológico existente utilizándolo siempre con una correcta base fisiológica que, paralelamente, debe contextualizarse en el marco de una óptima periodización del entrenamiento deportivo.

La velocidad

Concepto

La velocidad puede considerarse como un factor de rendimiento físico-deportivo desde dos puntos de vista distintos. Por un lado, la velocidad representa una capacidad física básica; por otro, la velocidad es una magnitud física que expresa la relación entre el espacio recorrido y el tiempo empleado para ello (Nimmerichter, 2018; Platonov, 2001).

Considerando la velocidad como capacidad física puede definirse como un conjunto de propiedades funcionales que permiten realizar acciones motoras en el mínimo tiempo posible (Platonov, 2001). La velocidad siempre ha guardado una estrecha relación con la fuerza. En este contexto, se podría considerar que la fuerza explosiva es la manifestación más relacionada con la velocidad, pues consiste en generar máximas tensiones musculares por unidades de tiempo (Bompa, 2017; Cometti, 2007).

Desde el marco de la fisiología del ejercicio, la velocidad como cualidad anaeróbica viene determinada por las potencias metabólicas anaeróbicas alácticas (pico máximo

energético alcanzado en un intervalo de 10 a 15 segundos) y lácticas (pico máximo energético alcanzado en un intervalo de 30 a 70 segundos). Por una parte, en la velocidad relacionada con la potencia anaeróbica aláctica, los mecanismos nerviosos y neuromusculares adquieren una gran relevancia (Wilmore y Costill, 2015). Por otra, con respecto a la velocidad enmarcada dentro de la potencia anaeróbica láctica, existen otros factores metabólicos añadidos que también adquieren especial importancia. Entre ellos se encuentran la capacidad de resíntesis de ATP muscular, la capacidad de aclaramiento del lactato y los factores técnicos (Komi y cols., 1977; Verkhoshansky, 2000).

Por lo tanto, se podría definir la velocidad como una capacidad eminentemente anaeróbica. Dadas sus características particulares, existe una serie de factores que condicionan esta cualidad. Entre otros, los más destacados son (Platonov, 2001; Verkhoshansky, 2000):

- La técnica y los factores neuromusculares.
- Factores neuroendocrinológicos y metabólicos.
- El componente contráctil muscular.
- La dotación genética. La herencia de ciertos genes, por ejemplo, los que codifican para las unidades motoras rápidas compuestas por las fibras musculares tipo II B, marca uno de los puntos importantes relacionados con la dotación genética de los velocistas.
- El tiempo de reacción. Constituye el intervalo temporal desde que comienza un estímulo hasta que aparece la primera respuesta motora. Esto implica un complejo procesamiento nervioso que se realiza en pocas décimas de segundo en los sujetos más entrenados. Es un acto consciente y voluntario que se diferencia de los reflejos medulares, los cuales son involuntarios y se vehiculizan por otras vías.
- Resistencias externas. Las resistencias externas ejercidas por el viento, el agua, la nieve, los aparatos y los adversarios en los distintos deportes, influye de manera negativa en los niveles de velocidad que el deportista puede alcanzar. Por ello, el entrenamiento de la velocidad debe ser lo más específico posible.
- Componente elástico muscular. Este componente permite que la energía mecánica generada a través de la contracción muscular se traduzca en movimiento. Es bien conocido que las propiedades elásticas musculares

pueden influir de manera determinante en la velocidad de cualquier gesto técnico dinámico que implique una elongación del tejido muscular. Durante esta elongación se almacena energía elástica que se libera junto con la energía mecánica producida por el componente contráctil favoreciendo los niveles de fuerza y velocidad.

Por otra parte, la velocidad puede considerarse como una magnitud física que representa el espacio recorrido en un determinado intervalo de tiempo. Desde esta perspectiva, actualmente, la velocidad se ha establecido en multitud de modalidades deportivas como un factor de rendimiento esencial que se detalla a continuación (McCormack y cols., 2018).

Aplicaciones de la velocidad en el rendimiento deportivo.

Según Verkhoshansky, en el mundo deportivo se pueden apreciar tres importantes regímenes específicos de velocidad: el acíclico, el de impulso de salida y el de desplazamiento (Verkhoshansky, 2000).

El régimen acíclico lo representa una sola acción concéntrica explosiva, es decir, son esfuerzos eminentemente alácticos. El impulso de salida hace referencia a los potentes niveles de aceleración durante la salida para conseguir recorrer una distancia en un intervalo temporal mínimo y, al igual que el anterior, es un concepto predominantemente anaeróbico. Finalmente, la velocidad de desplazamiento constituye el mantenimiento de una velocidad determinada durante una cierta distancia. De este modo, en función de la distancia y el tiempo que se recorra a la máxima velocidad posible, varían las predominancias de los metabolismos energéticos (Bompa, 2017; Wilmore y Costill, 2015; Verkhoshansky, 2000).

Al igual que ocurría con la fuerza, la velocidad, como cualidad física, ha sido una capacidad que se ha desarrollado con especial énfasis en los deportes con elevadas demandas anaeróbicas (Karsten y cols., 2016). No obstante, la velocidad es esencial en la mayor parte de las disciplinas deportivas. Un ejemplo muy claro se da en el ciclismo de ruta, un deporte en el que si solo se considerase su duración parecería lógico pensar que es aeróbico en su totalidad. Sin embargo, los momentos importantes de la carrera se van a decantar por la calidad de los metabolismos anaeróbicos que posean los ciclistas. Situaciones tales como el último tramo de la carrera, las escapadas del pelotón e incluso las subidas a los puertos constituyen momentos metabólicos con altas demandas

anaeróbicas en los que la fuerza y la velocidad juegan un papel crucial (Beattie y cols., 2014b; Faria y cols., 2005).

Como ya se ha descrito, la velocidad constituye una magnitud física básica. Aunque resulte obvio, es importante tener en cuenta que en las carreras deportivas el atleta que llegue más rápido a la meta gana. Por ello, uno de los principales objetivos del entrenamiento para toda modalidad de resistencia es conseguir que los deportistas corran a velocidades superiores en zonas fisiológicas submáximas, es decir, convertirlos en organismos más eficientes (McCormack y cols., 2019; Rønnestad y Mujika, 2014). De acuerdo con esta idea, la velocidad de desplazamiento constituye un factor de rendimiento esencial en muchos deportes.

Como consecuencia, el análisis de la velocidad en correlación con las zonas fisiológicas de entrenamiento y los W ha adquirido una gran relevancia (Beattie y cols., 2014b; McCormack y cols., 2018). Al igual que ocurría con los W, ciertos autores y preparadores físicos han establecido que la velocidad asociada con el UAN o el VO_2 máx. constituye un parámetro más eficaz para predecir el rendimiento físico-deportivo en deportistas de élite en comparación con el análisis aislado de las variables ergoespirométricas (Beattie y cols., 2014b; Fletcher y cols., 2009; Paavolainen y cols., 2000).

1.3.5. Las ayudas ergogénicas en el rendimiento deportivo

En el mundo actual del alto rendimiento deportivo, donde todos los deportistas poseen potentes maquinarias fisiológicas, el éxito en muchas ocasiones se determina por pequeños detalles. El profundo conocimiento sobre las ayudas ergogénicas y los momentos ideales de su empleo a lo largo de la temporada, aporta a los profesionales del deporte un arma que puede llegar a diferenciar los buenos resultados de los excelentes.

En gran cantidad de disciplinas deportivas muchas ayudas ergogénicas se han consolidado como herramientas fundamentales. Existen numerosos trabajos que desarrollan con elevada especificidad este tema (Bucci, 2020). Por lo tanto, en el presente apartado solo se detallan los elementos básicos para comprender el contexto y el fin de este trabajo.

En el ámbito deportivo, una ayuda ergogénica puede definirse como una técnica o sustancia utilizada con el fin de mejorar el rendimiento físico. Las ayudas ergogénicas se han clasificado como nutricionales, farmacológicas, fisiológicas, psicológicas y

mecánicas. Estas ayudas pueden abarcar desde la utilización de protocolos aceptados, como la famosa carga de hidratos de carbono, hasta enfoques actualmente ilegales en el mundo deportivo, como el uso de esteroides androgénicos (Bucci, 2020; Debasis y Sreejayan, 2018).

Actualmente en España, según la Directiva marco 2009/39/CE aprobada por el Consejo y Parlamento europeos, las ayudas ergogénicas de tipo nutricional son consideradas como alimentos dietéticos. Estos alimentos están destinados a grupos poblacionales específicos, siendo obligatorio etiquetar en sus envases la finalidad de su uso. Dichos productos pueden comercializarse de diferentes maneras, en cápsulas, polvos, tabletas, pastillas, ampollas, bebidas, alimentos, etc. (Palacios y cols., 2019).

Así, las microalgas, línea teórica central de este trabajo, formarían parte de estas ayudas ergogénicas nutricionales.

1.4. LAS MICROALGAS: BASES BIOLÓGICAS.

1.4.1 Microalgas, concepto y contextualización.

Las microalgas se han utilizado desde hace más de 1.000 años en Asia donde se empleaban para combatir las duras épocas de hambruna. Las microalgas o fitoplancton son un conjunto diverso de microorganismos fotosintéticos, unicelulares o pluricelulares que habitan en los sistemas fluviales y marinos. Poseen la particularidad de contener clorofila de tipo “A”, presente específicamente en organismos que se encuentran en situaciones ambientales extremas como en las cimas de las montañas o en las profundidades del océano (Levine y Fleurence, 2018).

Las microalgas son muy diversas evolutivamente y ocupan los dominios eucarióticos y procarióticos donde se incluyen entre otras: las cianobacterias (algas verdeazuladas), Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas rojas), Ochrophyta (algas marrones) y Bacillariophyceae (diatomeas) (Metting, 1996). Por motivos de síntesis, en el presente manuscrito el término “microalgas” se refiere tanto a las formas eucarióticas como a las cianobacterianas.

Se estima que existen más de 100.000 especies de microalgas en nuestro planeta. No obstante, tan solo 41.000 especies han sido descritas hasta el momento, de las cuales únicamente se han investigado algunas decenas (Levine y Fleurence, 2018).

De forma genérica, las algas constituyen la base de todas las cadenas alimentarias acuáticas y producen más de la mitad del O₂ de nuestro planeta (Jacob-Lopes y Queiroz,

2020). Además, las microalgas se han instaurado como algunos de los principales suplementos dietéticos de la última generación, siendo cada vez más relevantes en la alimentación y la salud de nuestra sociedad (Samarakoon y Jeon, 2012). También se han realizado intentos por ampliar sus usos a otras esferas como a la del rendimiento deportivo (Gurney y Spendiff, 2020).

En la actualidad, los géneros de microalgas más explotados en la industria nutricional son: *Arthrospira (Spirulina)*, *Chlorella*, *Dunaliella* y *Haematococcus* (Bagheri y cols., 2022; Hussein y cols., 2006; Jaafar y cols., 2020)

En relación con el consumo humano de microalgas, algunos de los efectos más llamativos registrados hasta la fecha incluyen: la mejora de la función inmune, algunos efectos prebióticos y probióticos, así como aumentos de las concentraciones sanguíneas de hemoglobina. Muchos de estos efectos parecen estar relacionados con diversos fitoquímicos, péptidos bioactivos, antioxidantes y diferentes elementos presentes en las microalgas (Levine y Fleurence, 2018). Sin embargo, siguen siendo aún desconocidos la gran mayoría de los mecanismos celulares utilizados por las microalgas para desencadenar dichos efectos tras ser ingeridas.

1.4.2. Biología de las microalgas: taxonomía y citología.

Desde una perspectiva inmunofisiológica, es importante considerar que la acción de ingerir una microalga equivale a consumir un microorganismo con todos sus componentes bioquímicos y citológicos que, tras ser absorbidos, pueden interactuar con el medio interno del individuo. Por ello, para comprender correctamente la línea de los planteamientos del presente trabajo es fundamental conocer las estructuras celulares, así como la composición bioquímica de las microalgas y sus variaciones en función de sus géneros y especies. A lo largo de los siguientes apartados se desarrolla un recorrido general que analiza tanto los elementos estructurales básicos y la composición bioquímica de las microalgas como los procesos cinéticos y dinámicos de estos componentes en el medio interno del organismo humano.

1.4.2.1 Taxonomía de las microalgas.

Dada la enorme biodiversidad de las microalgas es extremadamente difícil describirlas detalladamente. No obstante, esta sección proporciona una visión general taxonómica de las especies y géneros más estudiados a través de las siguientes tablas, con la finalidad de comprender, contextualizar e ilustrar algunas de sus características:

Tabla 1. Generalidades taxonómicas de las microalgas más estudiadas.

	Cubierta celular	Género
Superreino procariota		
Reino Bacteria		
<i>Filo Cyanobacteria</i>		
Clase Cyanophyceae	Peptidoglucanos y polisacáridos	<i>Arthrospira (Spirulina), Nostoc, Microcystis.</i>
Superreino eucariota.		
Reino protozoos.		
<i>Filo euglenozoos</i>		
<i>Subfilo Euglenida</i>		
Clase Euglenophyceae	Cubierta celular compuesta por material proteínáceo enrollado helicoidalmente.	<i>Euglena</i>
Reino Cromista		
<i>Filo Haptophyta</i>		
Clase Coccolithophyceae	Cubierta celular compuesta por escamas de celulosa en forma de placa.	<i>Emilania.</i>
Subreino Harosa		
<i>Filo Miozoa</i>		
<i>Infrafilo Dinozoa</i>		
Clase Dinophyceae	Célula cubierta por vesículas poligonales que pueden contener celulosa.	<i>Gymnodinium</i>

Tabla de elaboración propia siguiendo las directrices de clasificación taxonómica propuesta por Ruggiero, 2015.

Tabla 2. Continuación de generalidades taxonómicas de las microalgas más estudiadas.

	Cubierta celular	Género
<i>Superfilo Heterokonta</i>		
<i>Filo Ochrophyta</i>		
Clase Bacillariophyceae	Matriz extracelular compuesta por dos valvas silíceas bilaterales.	<i>Phaeodactylum</i>
Reino Plantae		
<i>Subfilo Rhodellophytina</i>		
Clase Porphoridiophyceae	Compuesta por células únicas con o sin pared celular.	<i>Porphyridium.</i>
Subreino Viriplantae		
<i>Filo Chlorophyta</i>		
<i>Subfilo Chlorophytina</i>		
Clase Chlorodendrophyceae	Compuesta por una pared extracelular dividida por células únicas cuya capa externa está compuesta por elementos orgánicos.	<i>Tetraselmis.</i>
Clase Chlorophyceae	Matriz extracelular compuesta por glucoproteínas y polisacáridos.	<i>Chlorella,</i> <i>Haematococcus pluvialis,</i> <i>Dunaliella</i> <i>Chlamydomonas.</i>

Tabla de elaboración propia siguiendo las directrices de clasificación taxonómica propuesta por Ruggiero, 2015.

1.4.2.2 Ultraestructura de las microalgas.

La ultraestructura celular hace referencia a la organización interna de los componentes celulares observados bajo microscopía electrónica. La estructura celular de las microalgas depende de múltiples variables, como por ejemplo el reino o la clase a la que pertenezcan. Sin embargo, la mayoría de géneros comparten diversos componentes estructurales similares (Hori y cols., 1982; Levine y Fleurence, 2018). Esta sección aborda los elementos esenciales contenidos en las microalgas a nivel citológico, así como algunas de sus diferencias más básicas.

Con el fin de simplificar, este punto se divide en dos subapartados: el primero hace referencia a la organización intracelular de los componentes de las microalgas y el segundo desarrolla los elementos pertenecientes a la matriz extracelular.

Organización intracelular básica de las microalgas

En las microalgas procariotas el material genético no está organizado en cromosomas, encontrándose libre en el citoplasma junto con el resto de componentes celulares. Este grupo de microalgas es más simple funcionalmente que las eucarióticas. Por ello, sus orgánulos celulares, disueltos en el citoplasma, están destinados a realizar dos funciones primordiales: obtener energía a partir de la fotosíntesis y mantener las propias estructuras celulares (Amos y Qiang, 2013).

Para mantener las propias estructuras celulares, las cianobacterias requieren un sistema de síntesis proteica aportado por los ribosomas. Las cianobacterias desarrollan el mecanismo de obtención energética a través de los tilacoides. Estos orgánulos constituyen el sistema de membrana más evidente que posee la célula cianobacteriana. Además, se encuentran libres en el citoplasma y contienen el aparato fotosintético de estos microorganismos (Amos y Qiang, 2013; Levine y Fleurence, 2018).

Los tilacoides se aprecian como sacos aplanados que contienen ficobilisomas unidos a la superficie protoplásmica. Estos últimos constituyen los principales almacenes vegetales de las ficobiliproteínas, como las ficocianinas. Las ficocianinas presentes en la *Spirulina* se comercializan como pigmentos con múltiples propiedades nutraceuticas (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020).

Por otra parte, las microalgas eucariotas poseen un núcleo limitado por una membrana nuclear externa e interna. Este núcleo contiene la mayor parte del genoma distribuido en un conjunto de cromosomas y el nucleolo. Además, su citoplasma se encuentra dividido en compartimentos formados por invaginaciones de la membrana plasmática. En dichos compartimentos se hallan los orgánulos celulares siguientes: el aparato de Golgi, el retículo endoplásmico, las vacuolas, los centriolos y los cloroplastos (plastidios), dedicados a diversas funciones específicas. Asimismo, en las microalgas eucarióticas el mecanismo fotosintético se origina en los cloroplastos, donde se ubican los tilacoides que forman una compleja red que constituye la membrana interna del cloroplasto (Amos y Qiang, 2013; Levine y Fleurence, 2018).

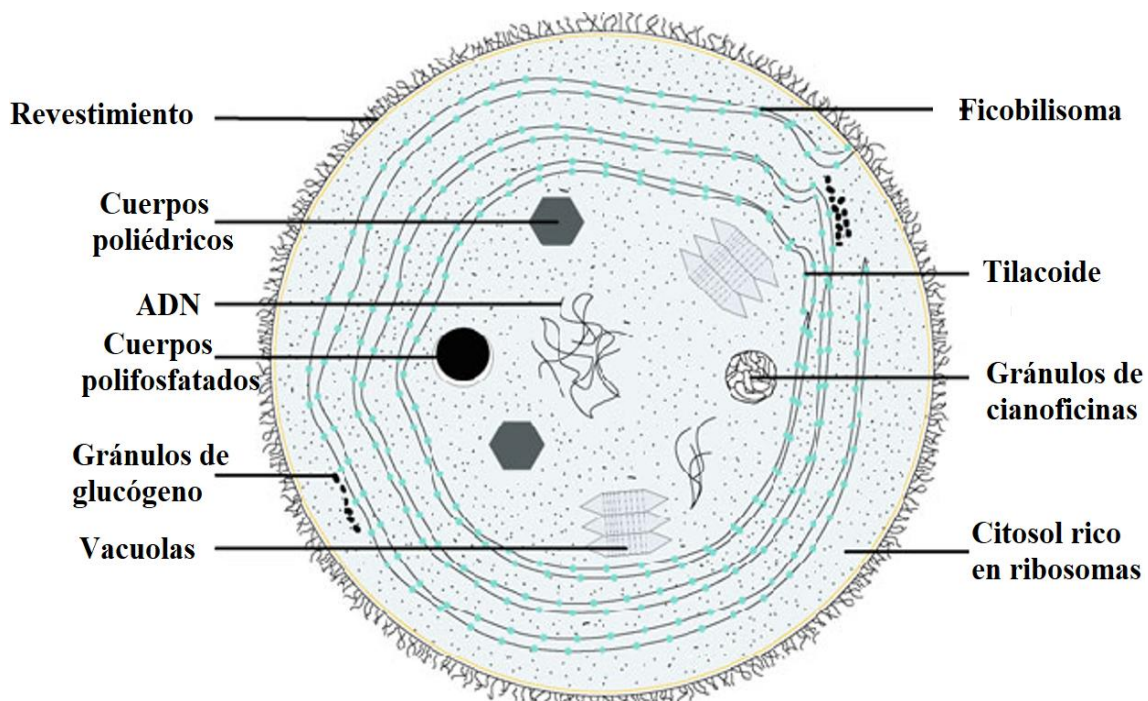
Además de estos componentes celulares, cabe destacar la presencia de diferentes inclusiones celulares como gránulos de glucógeno, lípidos y una gran variedad de pigmentos fotosintéticos cuya presencia y predominancia cambia según el tipo de microalga estudiada (Levine y Fleurence, 2018; Wu y cols., 2021).

Así, las microalgas eucariotas son más complejas y poseen mecanismos más específicos que les otorgan una mayor capacidad funcional con respecto a las microalgas procariotas.

Matriz extracelular de las microalgas.

Todas las células de microalgas están cubiertas por alguna forma de matriz extracelular (MEC). La MEC representa una cubierta tridimensional externa a la membrana plasmática que posee funciones primordiales en: la adhesión celular, el control de la expansión celular, la detección de estresores ambientales, la defensa celular, la reproducción y la morfogénesis de estos microorganismos (Amos y Qiang, 2013; Colusse y cols., 2022).

Figura 3. Representación gráfica de la ultraestructura celular de una microalga procariota.



Representación gráfica en la que se observan los diferentes elementos citológicos de una célula de microalga procariota. Modificado de Pignolet y cols, 2013.

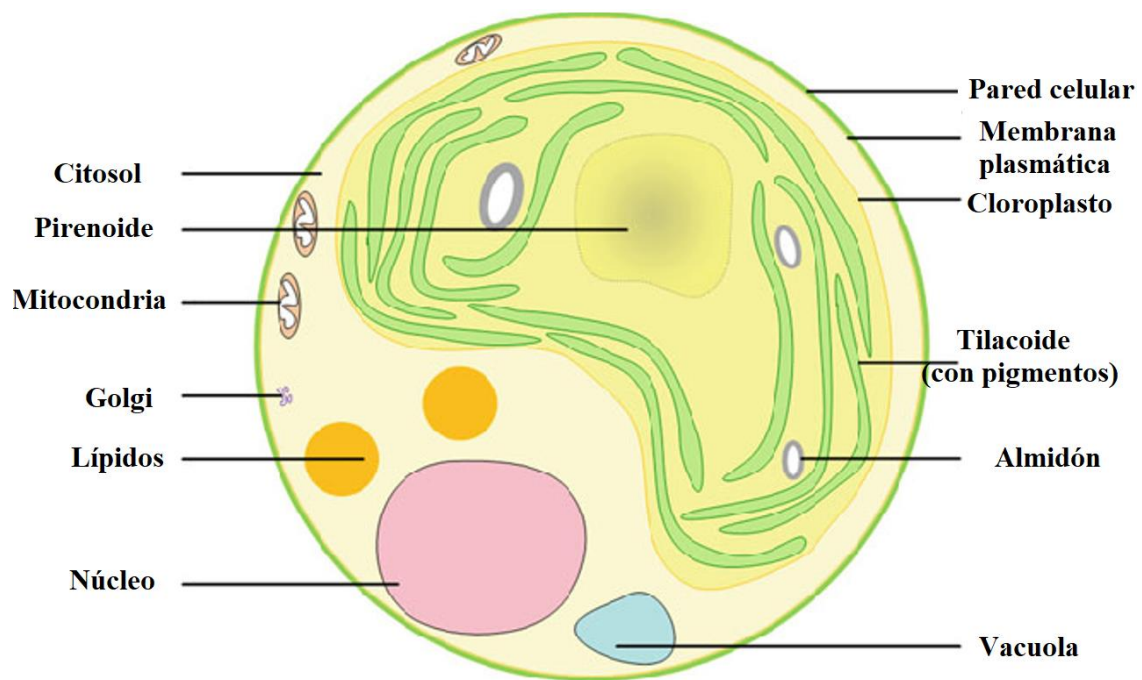
Las microalgas procariotas (Figura 3) poseen una pared celular de varias capas de tipo bacteriano *Gram negativo* que se encuentra bioquímicamente formada por una capa interna de mureína (peptidoglucano) y una capa externa de lipopolisacáridos. Igualmente, las microalgas procariotas carecen de celulosa a diferencia de la mayoría de las algas, lo que facilita su digestibilidad y su uso para el consumo humano. Esta es una de las razones

que avalan la suplementación con *Spirulina* (microalga procariota) (Amos y Qiang, 2013; Levine y Fleurence, 2018; Pignolet y cols., 2013).

Con respecto a las microalgas eucariotas, su MEC suele estar compuesta por una capa microfibrilar de celulosa. A través de diferentes mecanismos, la naturaleza de la propia MEC y el aparato de Golgi inducen la producción de polisacáridos ácidos y sulfatados que también forman parte de la MEC (Amos y Qiang, 2013; Cembella y cols., 2008).

Finalmente, es importante resaltar que la ingesta de alguna microalga conlleva inevitablemente la introducción de sus componentes celulares en el organismo humano. Muchos de estos elementos pueden interactuar con múltiples mecanismos neuroendocrinos, inmunes, eritropoyéticos, antioxidantes, etc.

Figura 4. Representación gráfica de la ultraestructura celular de una microalga eucariótica.



Representación gráfica en la que se observan los diferentes elementos citológicos de una célula de microalga eucariótica. Modificado de Pignolet y cols, 2013.

Como consecuencia, estas interacciones podrían desencadenar gran parte de los efectos de las microalgas observados en humanos, los cuales se describen en los próximos apartados.

1.4.3. Composición bioquímica de las microalgas.

Las microalgas se han utilizado desde hace siglos como fuente de alimento o suplemento para la salud debido a los diversos macronutrientes y micronutrientes que contienen. El principal interés de las microalgas proviene de su alto contenido proteico, que representa entre el 50% y el 60% de la masa seca en algunas especies. Las microalgas también son una fuente rica en polisacáridos que constituyen alrededor del 40% de la masa seca, cuya composición exacta varía según las diferentes especies. Con relación a la fracción lipídica se estima que representa alrededor del 5% al 10% de la masa seca. El principal interés de dicha fracción es su alta concentración en ácidos grasos poliinsaturados n-3 (AGPI n-3), que tras su ingesta son metabolizados en ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosaheaxanoico (DHA) (Eseberri y cols., 2019; Levine y Fleurence, 2018; Wu y cols., 2021).

Por otra parte, las microalgas constituyen una fuente valiosa de todas las vitaminas liposolubles e hidrosolubles, así como de minerales cuya absorción se ve facilitada por la ausencia de oxalacetato en estos microorganismos (Levine y Fleurence, 2018).

A continuación, se desarrolla más detalladamente cada uno de los elementos anteriormente mencionados.

1.4.3.1 Carbohidratos.

La biosíntesis de CH en las microalgas se produce a partir de los procesos fotosintéticos utilizando el CO₂ del entorno y los productos finales de este proceso son: la glucosa, el oxígeno, algunos minerales y el agua. Posteriormente, la glucosa puede derivar en la formación de glucógeno y en diversos tipos de polisacáridos y lipopolisacáridos que forman gran parte de la MEC de muchas especies de microalgas (Amos y Qiang, 2013).

Los polisacáridos son los carbohidratos más comunes entre las diferentes especies de microalgas, aunque poseen importantes diferencias en su composición. De este modo, se ha evidenciado que el conocimiento del origen del cloroplasto permite comprender qué tipos de carbohidratos se sintetizan directamente a partir del CO₂. Además, las posteriores modificaciones que estos carbohidratos sufren en la maquinaria de la célula vegetal depende directamente del linaje evolutivo de las microalgas (Levine y Fleurence, 2018; Wheeler y cols., 2015).

La determinación de la estructura de los polisacáridos de las microalgas es complicada debido a la compleja historia evolutiva de estos organismos. Por otra parte, las variaciones ecofenotípicas en la composición de los monosacáridos y su distribución dentro del polisacárido mediante la heterogeneidad de los enlaces glucosídicos también crean una gran parte de esta complejidad (Amos y Qiang, 2013; Jacob-Lopes y Queiroz, 2020).

Dichas variaciones están influenciadas por diferentes factores que afectan directamente a las microalgas. Entre ellos destacan sus condiciones de crecimiento, sus localidades geográficas, el momento de la cosecha, las técnicas de cosecha y las metodologías de extracción empleadas (Huang y cols., 2019; Jacob-Lopes y cols., 2019; Levine y Fleurence, 2018).

Los polisacáridos de la MEC poseen fuertes actividades bioquímicas y biológicas en el organismo humano cuando son ingeridos (Levine y Fleurence, 2018). Como consecuencia, todas las variables que influyan sobre la composición química de los polisacáridos pueden alterar su capacidad de interactuar con el medio interno del ser humano.

1.4.3.2 Lípidos

Los dos grupos lipídicos principales presentes en las microalgas son los lípidos polares y los lípidos no polares o lípidos neutros. En la mayoría de las especies de microalgas los glicerolípidos polares (fosfolípidos (FL) y glucolípidos (GL)) representan del 41% al 92% de los lípidos totales, mientras que los glicerolípidos no polares constituyen del 5% al 51% del total lipídico (Basova, 2005).

Los lípidos no polares en las microalgas incluyen triglicéridos, fitoesteroles y ácidos grasos libres:

- Los fitoesteroles son componentes esenciales de las membranas y sus funciones poseen una gran relevancia en el control de la fluidez y la permeabilidad de las membranas biológicas. En este sentido, los esteroles que componen las microalgas presentan una gran diversidad de estructuras en función de las especies (Volkman y cols., 1998).
- Los ácidos grasos libres son ácidos carboxílicos con largas cadenas alifáticas lineales o ramificadas que pueden ser saturadas o insaturadas. Según el número de dobles enlaces entre los átomos de carbono que presenten los

ácidos grasos se pueden clasificar en saturados (sin dobles enlaces), monoinsaturados (con 1 doble enlace) y poliinsaturados (con 2 o más dobles enlaces). Los AGPI se clasifican como n-3 y n-6 dependiendo de la posición del primer doble enlace desde el extremo metilo y poseen una gran variedad de propiedades beneficiosas para el organismo humano. El contenido en AGPI de las microalgas varía en gran medida en función de la especie, registrándose oscilaciones del 10% al 70% del total de la composición lipídica de las microalgas (Levine y Fleurence, 2018; Remize y cols., 2021).

- Con respecto a los glicerolípidos no polares, entre ellos los triglicéridos, son unos de los principales lípidos almacenados por algunas especies de microalgas con fines energéticos. Aunque se han verificado grandes variaciones entre especies pueden llegar a representar hasta el 60% del contenido lipídico total de las microalgas (Chen, 2012).

Con relación a los lípidos polares, constituyen componentes estructurales básicos de las membranas biológicas. En la mayoría de las microalgas los más representativos son los fosfolípidos y los glucolípidos:

- Los principales fosfolípidos identificados en las microalgas son la fosfatidilcolina, la fosfatidiletanolamina y el fosfatidilglicerol. Los fosfolípidos se encuentran en las membranas extracloroplásticas, salvo el fosfatidilglicerol que se ubica en las membranas de los tilacoides. En comparación con los anteriores elementos, los fosfolípidos suelen encontrarse en rangos más bajos situándose entre el 10% y el 20 % del total lipídico de las microalgas (Dembitsky y cols., 1990; Levine y Fleurence, 2018).
- Los glucolípidos más característicos presentes en microalgas son: el monogalactosildiacilglicerol (MCDG), sulfoquinovosildiacilglicerol (SQDG) y el digalactosildiacilglicerol (DGDG). Los MCDG y SQDG se encuentran principalmente formando las membranas de los plastidios de las microalgas, constituyendo componentes fundamentales de los tilacoides. Sin embargo, los DGDG también se pueden encontrar en las membranas extraplastidiales (Mizusawa y Wada, 2012).

De forma general, el peso seco lipídico entre microalgas puede diferir alrededor del 15% y el 75% (Chisti, 2007). Estos rangos tan amplios de variabilidad están condicionados por la cepa a la que pertenezca la microalga y el entorno donde se

desarrolle. En este aspecto, se ha evidenciado que numerosos parámetros como los factores ambientales o nutricionales tienen un impacto directo sobre los mecanismos de biosíntesis lipídica vegetal (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020).

1.4.3.3. Proteínas y aminoácidos.

El contenido proteico de las microalgas difiere según la especie y el filo. De este modo, las líneas de microalgas que poseen mayores valores proteicos son las verdes y las verdiazuladas, pudiendo representar hasta más del 75% de su composición en algunas especies (Lupatini y cols., 2017). Contrariamente, los niveles más bajos de proteínas se registran en las algas rojas, variando entre el 2% y el 57% de su peso seco (S. M. Renaud y cols., 1994). Aunque por norma general las microalgas posean altos valores proteicos, cabe mencionar que su composición en aminoácidos varía en función de la fase de su crecimiento y las condiciones de su desarrollo (Lehninger y cols., 2000; Samarakoon y Jeon, 2012).

El patrón de aminoácidos esenciales contenido en las microalgas parece ser muy similar al de otras proteínas alimenticias de referencia, como la del huevo, debido a que las células de las microalgas están dotadas de los mecanismos necesarios para biosintetizar valina, leucina e isoleucina (Levine y Fleurence, 2018). Sin embargo, el coeficiente de digestibilidad proteico de las microalgas desciende con respecto al de este alimento de referencia. Este fenómeno se produce por la presencia de cantidades importantes de celulosa y otros polisacáridos en la matriz extracelular de muchas especies de microalgas (Demarco y cols., 2022).

La celulosa constituye un polímero de moléculas de glucosa unidos por enlaces glucosídicos de tipo β -1,4. Para digerir la celulosa y descomponerla en sus correspondientes moléculas de glucosa es necesaria la presencia de una enzima, la celulasa, que pueda hidrolizar dichos enlaces (Lehninger y cols., 2000). No obstante, al no poseer esta enzima el ser humano es incapaz de digerir la celulosa presente en ciertos alimentos de origen vegetal por lo que se entorpece la absorción de algunos de los componentes vegetales, como es el caso de los aminoácidos presentes en algunas microalgas (Habte-Tsion y Kumar, 2018).

Cabe destacar en este apartado, la existencia de los péptidos bioactivos. Estos son un grupo de moléculas que generalmente poseen menos de 50 residuos de aminoácidos y cumplen funciones muy específicas en un organismo vivo o célula. Estos péptidos se

encuentran encriptados entre las estructuras proteicas de las microalgas. Durante los procesos digestivos son liberados pudiendo atravesar el epitelio intestinal y cumplir sus funciones tras ser transportados por el torrente sanguíneo (Subramaniyan y cols., 2021; Fan y cols., 2014; Leung, 2005). No obstante, en próximos apartados se detallan en profundidad los distintos mecanismos y procesos en los que estas moléculas se hallan involucradas.

1.4.3.4. Minerales y vitaminas.

La composición inorgánica o mineral de las microalgas presenta grandes diferencias entre las distintas especies. Esto es consecuencia de la extensa distribución geográfica y de las condiciones ambientales en las que se encuentran las diversas formas de microalgas (Amos y Qiang, 2013; Levine y Fleurence, 2018).

En general, el contenido mineral de las microalgas marinas puede oscilar entre el 4% y el 20% de su composición, exceptuando las diatomeas cuya composición inorgánica es la más privilegiada de todas pues varían entre el 21% y el 40% de su peso seco (Reboloso y cols., 2000; Renaud y cols., 1999).

Como se ha mencionado anteriormente, la composición inorgánica de las microalgas es muy fluctuante. A continuación, se detallan los minerales que se han verificado como los más abundantes en las microalgas marinas:

- El hierro (Fe) es considerado como el mineral más esencial presente en las microalgas, pues resulta crucial en la formación de la clorofila y en las reacciones de óxido-reducción. En las microalgas las concentraciones de Fe oscilan entre 15 y 15.500 mg/Kg (Vymazal, 1995).
- El sodio (Na) es otro mineral abundante en estos microorganismos. Se estima que la concentración de este mineral en microalgas marinas varía entre 6.000 y 47.000 mg/Kg (Levine y Fleurence, 2018; Vymazal, 1995).
- El silicio (Si) se encuentra en grandes concentraciones en las microalgas diatomeas oscilando entre el 10% y el 30% de su composición mineral (Vymazal, 1995). Sin embargo, en el resto de microalgas, los valores de este mineral se aproximan al 2% del total de su composición inorgánica (Vymazal, 1995).
- El magnesio (Mg) representa entre el 5% y el 8% de la composición mineral de las microalgas marinas (Vymazal, 1995). Este elemento es fundamental en

la mayor parte de las microalgas pues se encuentra asociado a la formación de la enzima catalasa y de los pigmentos fotosintéticos (Levine y Fleurence, 2018).

- El Zinc (Zn) se encuentra en cantidades importantes en las microalgas marinas. Sus concentraciones oscilan entre 4,6 y 3.700 mg/Kg en las microalgas (Vymazal, 1995). Junto con el Fe, representa uno de los elementos inorgánicos más primordiales en estos seres vivos, interviniendo en numerosas reacciones enzimáticas y en las etapas de crecimiento de las microalgas (Amos y Qiang, 2013).
- El Selenio (Se) es esencial para que las células de las microalgas lleven a cabo sus funciones de transporte transmembrana, así como en la síntesis de selenoproteínas para el mantenimiento del potencial óxido-reductor celular (Doblin y cols., 1999). En las microalgas marinas este mineral se encuentra en proporciones de aproximadamente 0,04 mg/kg a 0,10 mg/kg (Bowen, 1979).

Es importante señalar que parte de los minerales que poseen las células de las microalgas pueden provenir de la contaminación como consecuencia de los desechos de origen humano, de ciertos vertidos de distinta naturaleza y de los gases de combustión (Levine y Fleurence, 2018). Este aspecto se aborda en próximos apartados.

En cuanto al contenido vitamínico de las microalgas, estas constituyen una fuente importante de diversas vitaminas como los tocoferoles (vitamina E), el ácido ascórbico (vitamina C) y las vitaminas del complejo B (B1, B2, B3, B6, B9 y B12) (Koyande y cols., 2019; Nicoletti, 2016). Por ejemplo, cabe resaltar las importantes concentraciones de vitamina B12 que poseen ciertas especies de microalgas como la *Arthrospira* (*Spirulina*) (Anantharajappa y cols., 2020).

1.4.3.5. Pigmentos.

Los pigmentos elementalmente son moléculas que absorben la luz del espectro visible y se ubican en la maquinaria fotosintética de los organismos de origen vegetal formando los denominados complejos antenas. En estos complejos se capta la energía de los fotones transformándola en energía química y transfiriéndola al centro de reacción. En el centro de reacción, constituido por proteínas que rodean a una molécula de clorofila A, B o C, a

través de una serie de reacciones de óxido – reducción se forma oxígeno como subproducto final (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020).

En las microalgas existen dos grandes clases de complejos de antenas. Un primer tipo de complejo donde predominan los carotenoides y la clorofila, ubicados en los tilacoides y unidos directamente al centro de reacción y un segundo tipo de complejo, los ficobilisomas, cuyos pigmentos los constituyen las ficobiliproteínas (ficocianina, aloficocianina, ficoeritrina y ficoeritrocianina) (Jacob-Lopes y cols., 2019; Jacob-Lopes y Queiroz, 2020; Levine y Fleurence, 2018).

Los modelos de complejos antena difieren profundamente según los géneros y las especies de microalgas. La disponibilidad de luz y el clima pueden variar significativamente la concentración pigmentaria de estos microorganismos. En este sentido, la clasificación de las microalgas se basa en sus pigmentos distintivos (microalgas verdes, microalgas verdiazuladas, microalgas rojas, microalgas pardas...). La longitud de onda que no es absorbida por estos pigmentos se capta por el ojo humano apreciándose el color correspondiente en cada tipo de microalga (Amos y Qiang, 2013; Hussein y cols., 2006; Jacob-Lopes y Queiroz, 2020).

En general, los pigmentos fotosintéticos de las microalgas se clasifican típicamente en tres grupos: clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas (Demarco y cols., 2022).

Todos los tipos de microalgas poseen clorofila A. La clorofila B está solo presente en las microalgas verdes mientras que la clorofila C se encuentra especialmente en las microalgas pardas (Levine y Fleurence, 2018). Los carotenoides se distribuyen generalmente en concentraciones notables tanto en microalgas verdes como pardas (Demarco y cols., 2022; Wang y cols., 2022). Por otra parte, las ficobiliproteínas son exclusivas de las microalgas rojas y verdiazuladas. (Demarco y cols., 2022)

Clorofilas

Las clorofilas se consideran compuestos liposolubles y constituyen el pigmento natural más abundante y común en las microalgas. Químicamente, las clorofilas son pigmentos formados por un anillo de porfirina con un ion magnesio central y una larga cadena lateral que confiere a las moléculas carácter hidrofóbico. Como ya se ha mencionado, existen diferentes tipos de clorofila que se encuentran en las microalgas en diversas proporciones según la especie (Halim y cols., 2010; Jacob-Lopes y Queiroz, 2020; Levine y Fleurence, 2018).

En los últimos años la producción comercial de clorofila como colorante natural en la industria alimentaria y farmacéutica ha adquirido una atención especial puesto que el proceso de extracción de los pigmentos clorofílicos ha resultado ser un proceso fácil y económico (Halim y cols., 2010).

Cabe resaltar que el contenido de clorofila en la biomasa de microalgas puede disminuir significativamente bajo condiciones de estrés ambiental. Por el contrario, la concentración de otros compuestos bioactivos como los carotenoides aumentan en estas condiciones que a priori parecen ser desfavorables (Solovchenko y cols., 2011).

Carotenoides.

Los carotenoides son compuestos liposolubles que pertenecen a la familia de los terpenos, formados por ocho unidades de isopreno, que constituyen un total de cuarenta átomos de carbono. Según su estructura, los carotenoides se dividen en carotenos y xantofilas (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020).

En relación a los carotenos, los más abundantes en las microalgas son los beta y los alfa carotenos. Los betacarotenos constituyen precursores conocidos de la vitamina A y están presentes en las principales clases de microalgas. En cuanto a los alfa carotenos difieren de los beta carotenos por la posición de los dobles enlaces en el anillo de hidrocarburo y se encuentran especialmente en ciertas microalgas verdes y rojas (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020; Levine y Fleurence, 2018).

Con respecto a las xantofilas, constituyen derivados de la oxidación de los carotenos. El grupo de las xantofilas incluye un gran número de pigmentos, algunos de ellos son los siguientes (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020):

- Luteína, violaxantina, astaxantina y neoxantina. Son pigmentos accesorios ubicados principalmente en las microalgas verdes.
- Fucoxantina, diadinoxantina y diatoxantina. Son carotenoides contenidos especialmente en las microalgas pardas.

Aunque existen evidencias de que la mayoría de estos compuestos carotenoides pueden desencadenar efectos positivos sobre el organismo humano, solo algunos se utilizan a nivel comercial. Entre ellos, destacan los beta carotenos, la astaxantina y la luteína (Gammone y cols., 2015; Hussein y cols., 2006).

Ficobiliproteínas.

Las ficobiliproteínas son una familia de pigmentos hidrosolubles exclusivos de las microalgas verdiazuladas y de algunas microalgas rojas. La unidad básica de las ficobiliproteínas es un heterodímero de subunidades alfa y beta constituidas por varios cromóforos, denominados bilinas. Se han identificado cuatro tipos: la ficocianina, la aloficocianina, la ficoeritrina y la ficoeritrocianina (Amos y Qiang, 2013; Demarco y cols., 2022; Jacob-Lopes y Queiroz, 2020).

En definitiva, una importante parte de las explicaciones de los posibles efectos que las microalgas poseen sobre la fisiología humana puede residir en la composición bioquímica de las mismas. Por lo tanto, tras la ingesta, digestión y absorción de los componentes bioquímicos de cualquier tipo de microalga se pueden producir diferentes interacciones con el medio interno del organismo humano que conlleven multitud de efectos fisiológicos. Dichos efectos están condicionados por los mecanismos cinéticos y dinámicos de los componentes bioquímicos de las microalgas, por lo que no todas las microalgas van a producir los mismos resultados fisiológicos.

Por ello, en los próximos apartados se analizan de manera general los procesos cinéticos y dinámicos de los componentes bioquímicos descritos en esta sección que tienen lugar en el organismo humano tras la ingesta de una microalga.

1.5. BASES FARMACOCINÉTICAS Y FARMACODINÁMICAS APLICADAS AL CONSUMO HUMANO DE MICROALGAS.

La farmacología es la ciencia que estudia la dinámica, la cinética, la composición, las propiedades físico – químicas y el origen de los fármacos o principios activos (Satoskar y Bhandarkar, 2020). Aunque actualmente las microalgas no se consideren medicamentos, estas poseen numerosos compuestos químicos con altas actividades biológicas, lo cual les otorga la capacidad de producir diferentes efectos en el organismo humano a través de múltiples mecanismos de acción (Samarakoon y Jeon, 2012).

Desde un punto de vista farmacológico, las microalgas son compuestos biológicos complejos. Esta complejidad radica en la coexistencia de múltiples principios activos en un solo producto. Cada uno de estos elementos bioquímicos posee potenciales posibilidades de ejercer diferentes efectos fisiológicos a través de una infinidad de vías bioquímicas. Desde el momento en el que las microalgas son ingeridas y se introducen en el sistema digestivo, comienzan a someterse a las leyes de la farmacocinética y de la

farmacodinámica. Esta situación condiciona la utilización de los elementos activos de las microalgas en el medio interno. Por ello, la comprensión de estos fenómenos resulta fundamental para analizar correctamente los resultados de esta investigación.

La farmacocinética consiste en el estudio de la evolución temporal de las concentraciones de los fármacos y sus metabolitos en los distintos compartimentos histológicos del organismo, es decir, evalúa los procesos que el organismo ejerce sobre el principio activo desde que este es absorbido hasta que es eliminado (Satoskar y Bhandarkar, 2020). Por otra parte, la farmacodinámica se encarga del estudio de las acciones de los fármacos sobre los sistemas biológicos describiendo sus mecanismos de acción y sus efectos farmacológicos (Satoskar y Bhandarkar, 2020).

Ambas disciplinas se encuentran relacionadas pues los procesos farmacocinéticos pueden condicionar en gran medida los farmacodinámicos. Por ello, muchos autores no consideran que exista esta división (Gabrielsson y Weiner, 2000). No obstante, con la finalidad de facilitar la comprensión de las acciones de las microalgas sobre el organismo humano, la presente tesis doctoral mantiene la separación de estas dos disciplinas.

Los procesos farmacodinámicos son detallados en el apartado 1.5.2. pues en este se analizan los efectos de las microalgas sobre los diferentes sistemas fisiológicos del organismo humano. En la siguiente sección se aborda especialmente la farmacocinética de los componentes bioquímicos descritos en el apartado 1.4.3.

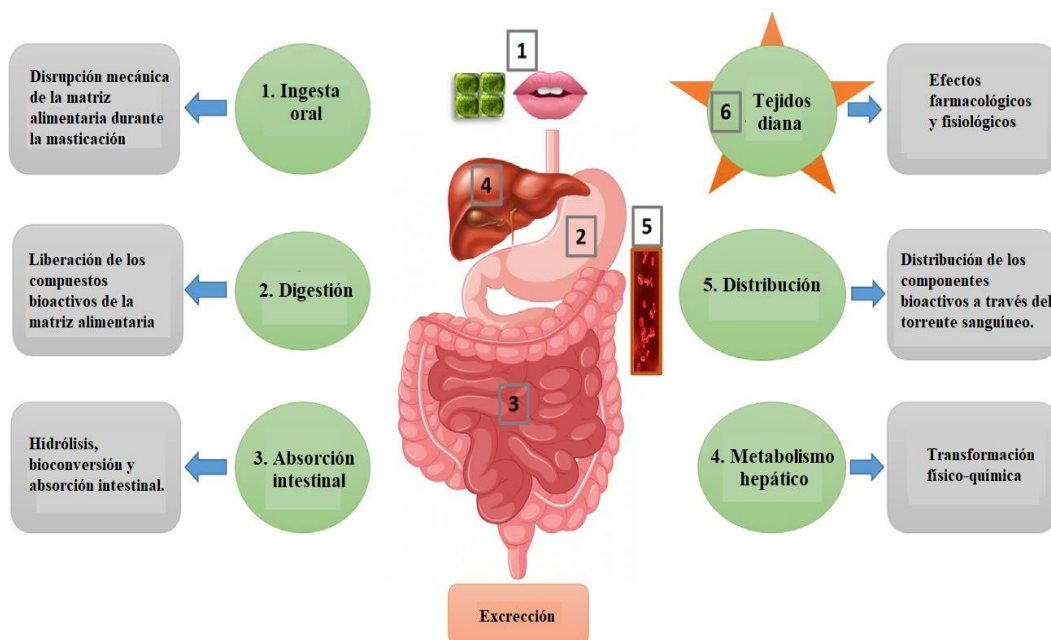
1.5.1. Farmacocinética aplicada a los compuestos bioquímicos de las microalgas.

Actualmente, no existe un modelo farmacológico que haya evaluado las cinéticas de los componentes bioactivos de las microalgas en el organismo humano. Sin embargo, en el presente subapartado se ha considerado conveniente aportar una visión general de los fenómenos cinéticos que sufren los compuestos bioactivos contenidos en las microalgas tras ser ingeridos por el ser humano.

En relación con lo anterior, es evidente que las microalgas son fuentes ricas de moléculas biológicamente activas con un alto potencial comercial en industrias farmacológicas, cosméticas, nutraceúticas y de alimentos funcionales (Saide y cols., 2021). Sin embargo, la información sobre la bioaccesibilidad, la bioactividad y la biodisponibilidad de estas moléculas bioactivas sigue siendo todavía escasa.

La biodisponibilidad se define como la fracción del compuesto ingerido que llega a los sitios relevantes del organismo en su forma activa y en una concentración adecuada. De este modo, la biodisponibilidad engloba a los otros dos conceptos mencionados anteriormente, la bioaccesibilidad y la bioactividad. En primer lugar, la bioaccesibilidad representa la fracción de un compuesto que se libera de la matriz alimentaria tras la digestión para ser solubilizado y absorbido en el intestino. Así, el concepto de bioaccesibilidad comprende la ingesta, la digestión y la absorción intestinal de la sustancia. Por otra parte, la bioactividad se asocia con el metabolismo, la distribución y la interacción del compuesto con otras moléculas del medio interno (Demarco y cols., 2022; Fan y cols., 2014). Estos tres conceptos son esenciales para comprender la farmacocinética de los elementos bioquímicos de las microalgas y constituyen el pilar sobre el que se sustenta este apartado.

Figura 5. Representación esquemática de algunos de los principales procesos fisiológicos que influyen en la biodisponibilidad de los componentes bioactivos contenidos en las microalgas cuando estas son ingeridas por vía oral.



Representación esquemática en la que se muestran los diversos procesos fisiológicos que podrían influir en la biodisponibilidad y la bioaccesibilidad de los componentes bioactivos presentes en las microalgas cuando estas son ingeridas de forma oral. Modificado de Rodríguez-Roque y cols., 2021.

Aunque las microalgas contengan una gran cantidad de compuestos bioactivos solo una pequeña proporción de estos es absorbida, metabolizada y utilizada para ejercer su función biológica (Demarco y cols., 2022; Levine y Fleurence, 2018). Por lo tanto, no

solo importa el tipo y la cantidad de compuestos bioactivos contenidos en las microalgas, sino que es esencial considerar las fracciones de estos compuestos que realmente son liberadas, absorbidas, metabolizadas y distribuidas dentro del cuerpo humano y que alcanzan posteriormente los tejidos diana (Demarco y cols., 2022). Por este motivo, es importante considerar tanto la bioaccesibilidad como la biodisponibilidad de los constituyentes bioactivos. El análisis de estos dos parámetros permite una mejor comprensión de la actividad biológica *in vivo* de los componentes de las microalgas.

1.5.1.1. Farmacocinética de los polisacáridos.

Como ya se ha descrito en anteriores apartados, los polisacáridos forman parte de la estructura principal de las paredes celulares de las microalgas. Además, la celulosa y las glucoproteínas de la MEC les confieren resistencia para ser digeridas a nivel enzimático. Estas sustancias, en su mayoría, no son digeribles por las enzimas estomacales e intestinales humanas (Demarco y cols., 2022). Como consecuencia, la MEC en función de su composición puede actuar como una cápsula que limita la bioaccesibilidad digestiva de los elementos bioactivos internalizados en las microalgas (Colusse y cols., 2022; Demarco y cols., 2022; Hori y cols., 1982).

La absorción prácticamente inapreciable de los polisacáridos de la MEC implica un aumento de sus concentraciones en el tracto gastrointestinal (TG), lo cual les otorga un potencial efecto prebiótico e inmunoestimulante (Demarco y cols., 2022).

1.5.1.2. Farmacocinética de los lípidos.

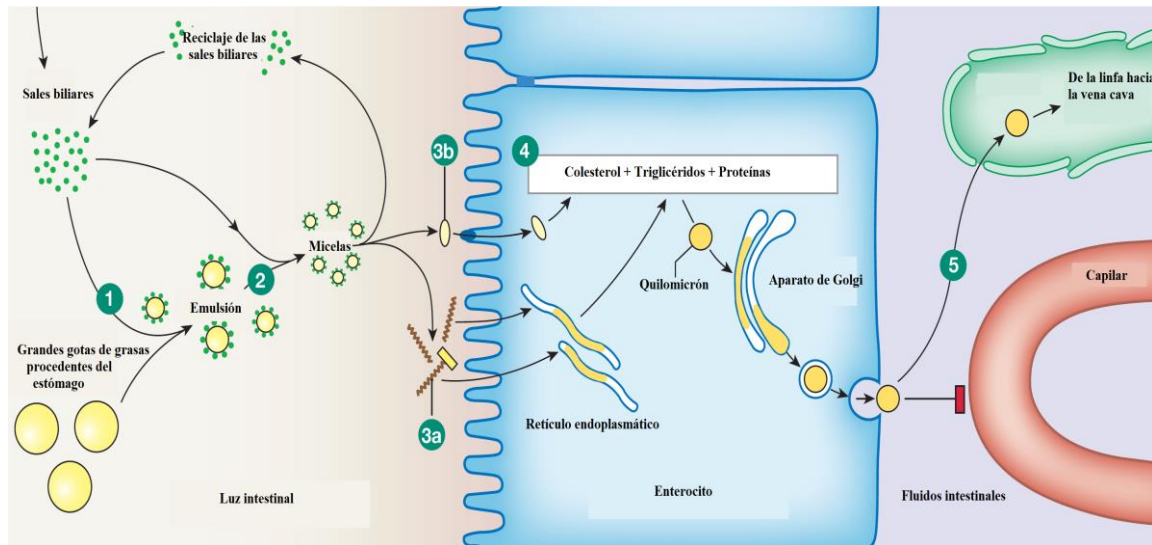
Los compuestos lipídicos deben incorporarse en micelas para poder ser absorbidos y distribuidos. Por lo tanto, su solubilización en micelas, así como la ruptura de la matriz alimentaria donde se encuentran, determinan el grado en el que estos compuestos son bioaccesibles y biodisponibles. En este aspecto, se han obtenido altos porcentajes de digestibilidad relacionados con los ácidos grasos procedentes de las microalgas. De acuerdo con esto, los AGPI n-3 pueden llegar a alcanzar valores de bioaccesibilidad de aproximadamente el 30% para algunas especies como la *Nanochloropsis* (Bernaerts y cols., 2020; Rodríguez-Roque y cols., 2021).

La digestión de los lípidos se realiza principalmente en el intestino delgado. El páncreas produce las principales enzimas que digieren los lípidos. Los productos de la digestión de los lípidos son hidrofóbicos y atraviesan fácilmente las membranas biológicas por difusión. El proceso se facilita aproximando los lípidos a la membrana

luminal del enterocito. Esto se logra mediante la acción de los ácidos biliares que rodean las pequeñas agregaciones de lípidos y que promueven la formación de las anteriormente citadas micelas. Dado que los ácidos biliares son anfipáticos, pueden orientar a los lípidos dentro de la micela. Como resultado final, las micelas pueden acercarse lo suficiente al epitelio intestinal difundiéndose los productos de la digestión lipídica a través de la membrana plasmática de los enterocitos. Además, los ácidos biliares no atraviesan la membrana del enterocito debido a su carácter anfipático, permaneciendo en la luz del TG para ser reutilizados posteriormente (Lehninger y cols., 2000; Hall, 2020).

En el citoplasma del enterocito los ácidos grasos y el colesterol se vuelven a convertir en triglicéridos y en ésteres de colesterol para empaquetarse en unas estructuras macromoleculares denominadas quilomicrones. Estas moléculas se liberan hacia el sistema linfático y posteriormente alcanzan el torrente sanguíneo distribuyéndose a todos los tejidos (Hall, 2020; Silverthorn, 2014).

Figura 6. Representación gráfica de los procesos de digestión, absorción y transporte de los lípidos procedentes de la dieta.



Representación gráfica en la que se observan los diferentes procesos de digestión, absorción y transporte de los lípidos procedentes de la dieta. 1 y 2. Las sales biliares se unen y emulsionan las gotas de grasa; 3b: el colesterol se introduce en el enterocito mediante sus transportadores; 3a: los ácidos grasos, las vitaminas liposolubles y la lecitina se introducen en el enterocito a través de difusión simple; 4: se forman los quilomicrones; 5: los quilomicrones son transferidos al sistema linfático. Modificado de Silverthorn y cols, 2014.

Fitoesteroles.

Los fitoesteroles (esteroles vegetales) poseen una estructura química similar a la del colesterol. Sin embargo, están constituidos por una cadena lateral adicional. Aunque el colesterol y los fitoesteroles posean una composición bioquímica parecida, tienen capacidades de absorción considerablemente diferentes. Esta pequeña diferencia en las estructuras químicas del colesterol y de los fitoesteroles es la única explicación razonable de sus divergencias absorptivas (Li y cols., 2022; Ostlund, 2007).

Se ha demostrado claramente que solo cantidades insignificantes de fitoesteroles atraviesan la membrana del enterocito, por lo que apenas se absorben. Por ello, la absorción de los fitoesteroles se considera menor al 2%. Contrariamente, la absorción del colesterol puede llegar a alcanzar valores significativamente más altos (Li y cols., 2022).

La mayoría de autores sostienen que la transferencia de esteroides vegetales desde las micelas hasta los enterocitos se realiza por difusión o por ciertos transportadores proteicos localizados en el borde de cepillo intestinal y que son comunes a los utilizados por el colesterol, como el NPC1L1 (Ticho y cols., 2021). Una vez en el citoplasma del enterocito, los fitoesteroles, antes de incorporarse a los quilomicrones, deben

reesterificarse (al igual que el colesterol) a través de la enzima acil-CoA-colesterol aciltransferasa de tipo 2 (ACAT2) (Li y cols., 2022). Sin embargo, los fitoesteroles poseen una baja afinidad por la ACAT2, esterificándose pobremente. Esto podría explicar la baja tasa de absorción de los fitoesteroles (Li y cols., 2022; Temel y cols., 2003).

Dado que los fitoesteroles utilizan los mismos transportadores y enzimas de reesterificación que el colesterol constituyen potentes competidores del mismo (Li y cols., 2022). Por ello, aunque los fitoesteroles se absorban mal pueden llegar a tener otros efectos que se explican en la próxima sección de este trabajo.

1.5.1.3. Farmacocinética de los pigmentos.

La farmacocinética de los pigmentos está condicionada tanto por su grado de lipo o hidrosolubilidad como por la integridad y la composición de la MEC. Los pigmentos se encapsulan naturalmente dentro de las células vegetales. Por ello, en ciertas ocasiones podrían resistir las duras condiciones de procesamiento digestivo (Demarco y cols., 2022).

Carotenoides

La comprensión de la farmacocinética de los carotenoides posee una gran complejidad debido a las diferencias fisicoquímicas entre los carotenoides y a las variaciones en cuanto a sus mecanismos de transporte lipoproteico.

Como anteriormente se ha descrito, los carotenoides son compuestos liposolubles y por ello siguen las mismas vías de absorción que otros lípidos de la dieta. La absorción de los carotenoides implica varios pasos que engloban desde la descomposición de la MEC de las microalgas y la liberación de los carotenoides en la luz del tracto gastrointestinal hasta la incorporación de los mismos en los quilomicrones linfáticos (Lehninger y cols., 2000; Gammone y cols., 2015). También, estos procesos incluyen la emulsión de los carotenoides por las sales biliares que forman micelas en el tracto gastrointestinal (TG). Las micelas son captadas por el enterocito y posteriormente se incorporan a las lipoproteínas linfáticas (Furr y Clark, 1997). Cualquier factor que altere esta cadena de eventos fisiológicos puede perturbar la biodisponibilidad de estas moléculas.

A diferencia de otros compuestos lipídicos de la dieta, la absorción de los carotenoides parece depender absolutamente de las sales biliares (Furr y Clark, 1997). En

contraposición, los ácidos grasos pueden ser absorbidos por el enterocito en ausencia de micelas (Lehninger y cols., 2000). De ahí que la formación de micelas sea un elemento crucial para la biodisponibilidad de los compuestos carotenoides.

Además, la absorción de los carotenoides depende de otros factores como la presencia de diversos compuestos bioactivos en el TG, la existencia de fibra dietética en el TG, el estado nutricional del huésped e incluso la coingestión de otros alimentos. En este sentido, la fibra dietética puede interactuar con los fluidos de la vía biliar, produciendo un gel insoluble que reduce la micelización de los carotenoides, lo cual provoca la disminución de todos sus procesos de absorción (Hof y cols., 2000).

La ingesta de múltiples carotenoides simultáneamente podría mermar la biodisponibilidad de los mismos debido a mecanismos de competencia bioquímica (Het Hof y cols., 2000). Sin embargo, se ha demostrado que la coingesta de 3 a 5 g de grasa dietética y carotenoides contribuye a potenciar todos los procesos de absorción intestinales de estas moléculas (Jalal y cols., 1998). Además, se ha informado de que el consumo de especies de microalgas que poseen una MEC menos rígida, podría aumentar la bioaccesibilidad de los carotenoides en el TG hasta un 20% más con respecto a otras especies que contienen una MEC con alto contenido en celulosa (Fernandes y cols., 2021). De acuerdo con lo anterior, la bioaccesibilidad *in vitro* de los carotenoides contenidos en las especies *Phaeodactylum tricornutum* puede llegar a alcanzar valores de hasta el 29% en comparación con las *Chlorella spp* cuya bioaccesibilidad muestra niveles muy bajos, alrededor del 0,1% y el 2,6% (Cha y cols., 2012; Gille y cols., 2019).

Tras la introducción de los carotenoides en el enterocito, el destino biológico depende de su estructura química. En este aspecto, se sabe muy poco acerca de los eventos celulares que regulan o facilitan la incorporación de los carotenoides en el sistema linfático y siguen sin conocerse con exactitud los mecanismos celulares que controlan el flujo de los carotenoides en el enterocito (Rodríguez-Roque y cols., 2021). No obstante, tras el transporte linfático y su distribución por los compartimentos histológicos, se ha comprobado que las concentraciones de carotenoides registradas a nivel intracelular son lo suficientemente altas como para producir efectos fisiológicos (Demarco y cols., 2022; Haoujar y cols., 2019; Levine y Fleurence, 2018).

Clorofilas.

La sensibilidad de las clorofilas naturales a los extremos del pH hace que el ambiente gástrico sea un candidato lógico para causar modificaciones en la clorofila ingerida. Esto implica la formación de derivados clorofílicos con distintas propiedades durante los procesos digestivos. Dichos derivados pueden ser lipófilos (clorofilas naturales) o altamente solubles en agua. Además, estos elementos poseen sensibilidades diferentes al pH y se producen variaciones tanto en el comportamiento digestivo como en los procesos absorbivos en función de la naturaleza química del derivado clorofílico (García-Vaquero y cols., 2021; Viera y cols., 2021, 2022).

Considerando que la clorofila es un compuesto de naturaleza lipídica, su mecanismo general de absorción se asemeja al de los carotenoides en los siguientes pasos: la liberación eficiente de la clorofila de la matriz alimentaria, la solubilización de los derivados lipofílicos en micelas mixtas, la captación de algunos derivados clorofílicos, como la comofeofitinas y las pirofeofitinas, por las células del epitelio intestinal y la secreción en la circulación tras el transporte linfático (Viera y cols., 2021). Además, los compuestos clorofílicos hidrosolubles no necesitan las micelas para ser absorbidos. Por ello, la absorción de los derivados clorofílicos hidrosolubles está limitada únicamente por la liberación de la matriz alimentaria, la captación y el transporte intestinal (Lehninger y cols., 2000).

Los principales productos finales digestivos de la clorofila los constituyen las feofitinas y los epímeros de las feofitinas (Ferruzzi y Failla, 2001; Zhong y cols., 2021). Se ha verificado en estudios de cultivo celular que la absorción de los derivados lipofílicos de la clorofila puede llegar a ser moderadamente eficiente situándose entre el 4% y el 10% del total de los derivados utilizados en protocolos de digestión *in vitro* (Chen y Roca, 2019). Aunque esta absorción parece relativamente escasa, los datos revelan que incluso una pequeña absorción de los derivados clorofílicos puede alcanzar concentraciones intracelulares suficientes para permitirles ejercer sus efectos fisiológicos (M. G. Ferruzzi y cols., 2001). Por el contrario, los derivados de la clorofila hidrosolubles se absorben de manera muy eficiente llegando desde el 45% hasta el 60% del total de los derivados empleados en cultivos de células intestinales humanas (Ferruzzi y Blakeslee, 2007; Zhong y cols., 2021).

Por otra parte, existen varias líneas de evidencias bien establecidas que identifican a los transportadores BCRP/ABCG2, un tipo de transportador ABC del epitelio intestinal, como a los protagonistas del transporte de múltiples derivados de la clorofila (Robey y cols., 2004). Sin embargo, actualmente se desconoce hasta qué punto estos sistemas de transporte pueden limitar la captación y la distribución de los derivados clorofílicos absorbidos a los tejidos diana (Ferruzzi y Blakeslee, 2007).

Tras la absorción por parte del epitelio intestinal, la distribución de los derivados clorofílicos se realiza en función de su naturaleza. Por una parte, los derivados lipofílicos siguen la ruta linfática a través de los quilomicrones. Por otra, los derivados hidrosolubles pasan por el sistema portal para su posterior distribución a los tejidos (Lehninger y cols., 2000; Ferruzzi y Blakeslee, 2007).

Ficobiliproteínas.

Hasta donde se conoce, no existe información sobre la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad de las ficobiliproteínas procedentes de las microalgas (Rodríguez-Roque y cols., 2021). No obstante, debido a su naturaleza química, los mecanismos de absorción son similares a los utilizados por algunos tipos de sustancias hidrosolubles. Como consecuencia, la formación de micelas no será una variable que influya en la biodisponibilidad de estas moléculas.

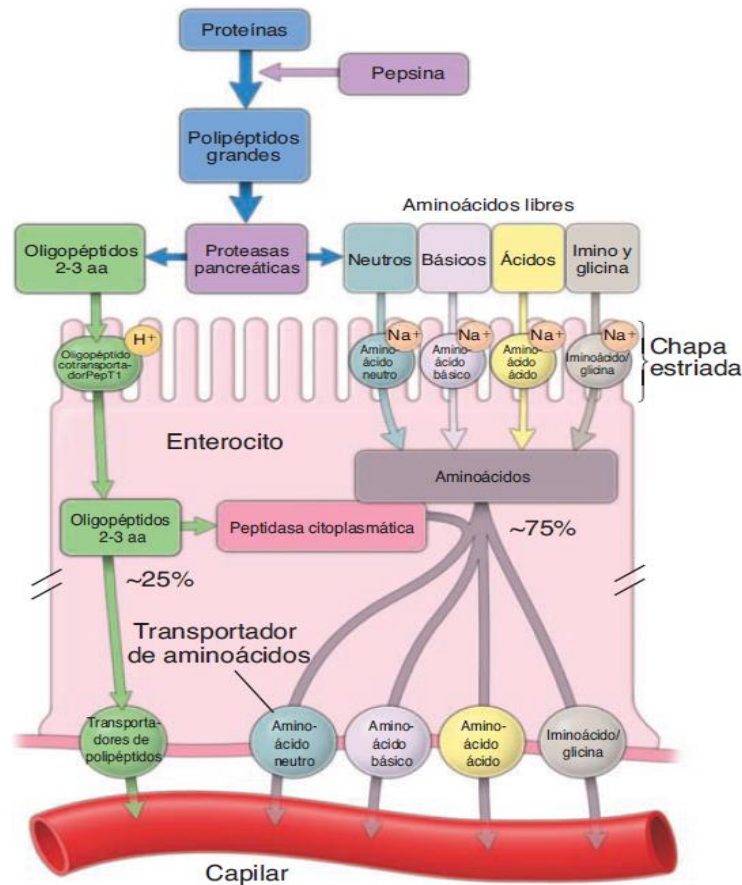
Además, al igual que en los anteriores compuestos, tanto la liberación de la matriz alimentaria como su absorción en el epitelio intestinal son dos factores primordiales que determinan las concentraciones finales de ficobiliproteínas en los tejidos diana (Demarco y cols., 2022). Para dilucidar los procesos digestivos y farmacocinéticos de las ficobiliproteínas es necesaria una mayor investigación.

1.5.1.4. Farmacocinética de los compuestos nitrogenados.

Por norma general, las proteínas macromoleculares son digeridas enzimáticamente por diversas peptidasas en el estómago y en el intestino delgado. La digestión de las proteínas se inicia en el estómago con la pepsina, secretada por las células principales gástricas de las glándulas oxínticas en forma de pepsinógeno. El pepsinógeno se activa por el bajo pH gástrico causado por la secreción del ácido clorhídrico (HCL) formado en las glándulas parietales gástricas. Posteriormente, las enzimas digestivas pancreáticas realizan la mayoría de la digestión proteica en la luz del intestino delgado. Estas enzimas proteolíticas del páncreas incluyen a la tripsina, la quimiotripsina, la elastasa y la

carboxipeptidasa. La función elemental de dichas enzimas consiste en descomponer la estructura proteica en cadenas cortas de unos pocos aminoácidos, denominados oligopéptidos (Lehninger y cols., 2000; Hall, 2020; Ross y Pawlina, 2016).

Figura 7. Representación gráfica de la digestión y absorción de las proteínas por el enterocito.



Representación gráfica en la que se muestra los diferentes procesos absorptivos y digestivos que sufren las proteínas tras ser ingeridas. Tomado de Pawlina y Ross, 2016.

La etapa final de la digestión proteica tiene lugar en el borde de cepillo del epitelio intestinal, donde las peptidasas unidas a la membrana completan la digestión de los oligopéptidos transformándolos en aminoácidos individuales, en dipéptidos y en tripéptidos, que pueden atravesar la membrana de la célula intestinal mediante un sistema de transporte activo secundario acoplado a la entrada de Na⁺, lo que es posible gracias a la presencia de una bomba Na⁺/K en la membrana basolateral del enterocito (Lehninger y cols., 2000; Gray y Cooper, 1971).

Una vez en el interior del enterocito, los dipéptidos y los tripéptidos se escinden para formar aminoácidos individuales debido a la acción de las peptidasas citosólicas.

Posteriormente, los aminoácidos saldrán a la circulación entérica a través de un sistema de transporte facilitado (Lehninger y cols., 2000).

Los aminoácidos obtenidos de la digestión proteica son empleados para sintetizar otras proteínas, así como para formar diversos compuestos nitrogenados. El resto de aminoácidos se metabolizan introduciéndose en diferentes reacciones de origen catabólico que implican la pérdida del ion amonio (procedente del grupo amino) y la formación de un cetoácido que puede pasar a las vías gluconeogénicas, formar acetyl CoA o almacenarse a través del metabolismo lipídico. Estos procesos se producen principalmente en el hígado ya que este posee las enzimas necesarias para tales reacciones. Entre dichas enzimas se incluyen las transaminasas que se describen en próximas secciones. Asimismo, el músculo esquelético es otro de los órganos que también posee transaminasas, permitiéndole producir cetoácidos y generar su propia energía química (Hall, 2020; Silk y cols., 1985).

El ion amonio liberado de la destraminación de las proteínas es tóxico para el organismo e incluso puede ser neurotóxico a bajas concentraciones. Por lo tanto, debe ser eliminado y transportado a través de moléculas inocuas. La urea es la molécula utilizada para tal fin debido a que es hidrosoluble y se puede eliminar a través de la orina. La formación de la urea se realiza a través del ciclo de la urea. Este ciclo bioquímico tiene lugar principalmente en el hígado, aunque en situaciones excepcionales también puede desarrollarse en los riñones (Lehninger y cols., 2000; Leonard y Morris, 2002).

Finalmente, la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad de las proteínas internalizadas en las microalgas, al igual que en los anteriores compuestos, dependen de la posibilidad de liberarlos del interior de la célula, protegida por la MEC, durante la digestión enzimática, así como de la integridad de los transportadores intestinales y de los procesos hepáticos de metabolización descritos anteriormente (Rodríguez-Roque y cols., 2021).

Péptidos bioactivos.

Aunque los péptidos bioactivos constituyen compuestos nitrogenados, debido a sus particularidades, se ha considerado describirlos independientemente en este apartado.

Los péptidos bioactivos constituyen oligopéptidos formados por menos de 50 aminoácidos y surgen después del procesamiento enzimático de las microalgas. De este modo, las secuencias de aminoácidos que estaban encriptadas en el interior de la estructura proteica de la microalga se liberan y pueden ejercer funciones específicas en el

organismo humano tras ser absorbidas por este (Segura-Campos y cols., 2011; Xu y cols., 2019)

En la actualidad, existe un gran interés por la investigación de las proteínas y sus derivados, como los péptidos. Se ha demostrado que los péptidos de diversas fuentes dietéticas como las microalgas poseen efectos claramente relevantes sobre la fisiología humana. Estas propiedades han llevado a etiquetarlos como péptidos funcionales o bioactivos y constituyen un área de investigación emergente en el mundo de las microalgas, pues estos péptidos podrían explicar muchos de los efectos fisiológicos de las mismas (Subramaniyan y cols., 2021; Suetsuna y Chen, 2001b).

Para que estos péptidos posean efectos sistémicos deben evadir todos los mecanismos enzimáticos intestinales y gástricos. Así, pueden atravesar la barrera intestinal de forma intacta y alcanzar el órgano diana con éxito. Esto lo logran mediante una serie de rutas intestinales que facilitan la entrada de los péptidos bioactivos al torrente sanguíneo y que evitan tanto la acción de las enzimas citosólicas del enterocito como de las presentes en la superficie de borde de cepillo del epitelio intestinal (Xu y cols., 2019). A continuación, se desglosan las principales vías que siguen los péptidos bioactivos:

Transporte de péptidos bioactivos mediado por PepT1

El PepT1 constituye un miembro de la familia de transportadores dependientes de H^+ . Su función es conducir los nutrientes desde la luz intestinal hacia los enterocitos utilizando el gradiente electroquímico de H^+ . Este transportador se ubica principalmente en la membrana del borde de cepillo intestinal y su mecanismo se basa en el aprovechamiento del gradiente de protones entre la luz intestinal (pH 5,5-6,0) y el citoplasma de las células epiteliales (pH 7,0) (Gilbert y cols., 2008; Pedretti y cols., 2008).

Estos transportadores son pequeños por lo que solo se limitan a la movilización de péptidos cortos como los dipéptidos y los tripéptidos. Además, reconocen preferentemente a los péptidos con carga neutra, hidrófobos y con aminoácidos apolares (Xu y cols., 2019).

Transporte de péptidos bioactivos por vía paracelular pasiva.

La ruta paracelular se encuentra mediada por uniones estrechas formadas por ocludina y claudina cuya disposición permite la penetración selectiva de ciertos péptidos

(Marchiando y cols., 2010). Esta ruta facilita el paso de péptidos más largos que la anteriormente descrita (Matsui, 2018).

La ruta paracelular también está influenciada por las propiedades peptídicas. Este sistema de transporte tiene preferencia por los péptidos de bajo peso molecular e hidrofílicos. Además, estos transportadores poseen selectividad para péptidos cargados negativamente debido a la composición bioquímica de las uniones estrechas (Xu y cols., 2019).

Los transportadores pasivos se encuentran, al igual que los anteriores, en las vellosidades intestinales y constituyen poros de hasta 1nm, lo cual les da capacidad para transportar péptidos de hasta 27 aminoácidos (Miner-Williams y cols., 2014).

Transporte de péptidos bioactivos mediado por transcitosis.

La transcitosis es una ruta de transporte transcelular dependiente de energía y que incluye la captación endocítica apical de los péptidos en la célula, el transporte transcitótico a través de vesículas internalizadas y la secreción basolateral al torrente circulatorio de los péptidos (Komin y cols., 2017).

Se piensa que esta ruta es la vía principal para el transporte de péptidos bioactivos de cadena larga. Además, la vía transcitótica tiende a favorecer el transporte de péptidos hidrofóbicos (Bouglé y Bouhallab, 2016).

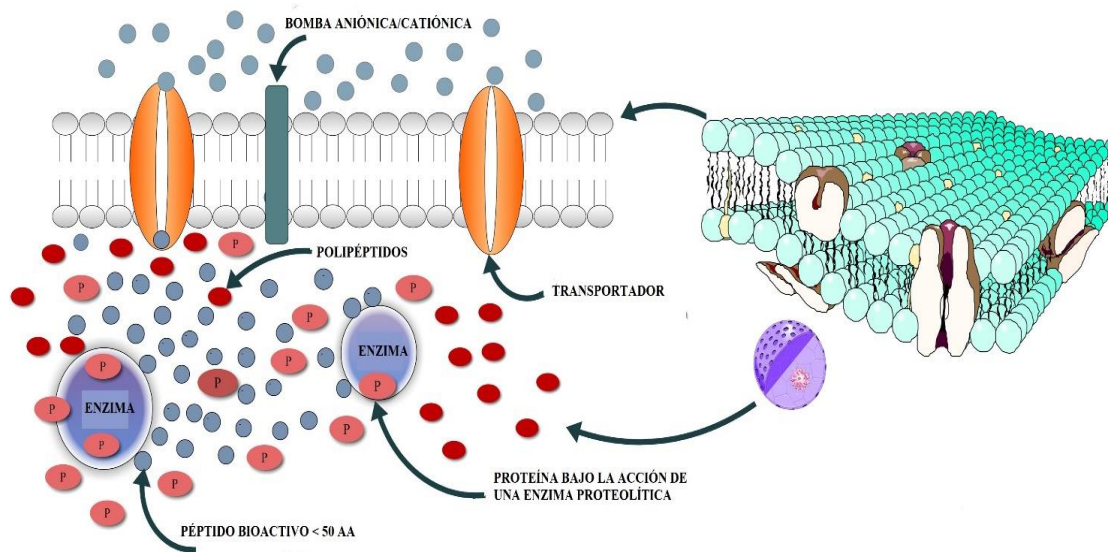
Transporte de péptidos bioactivos por difusión transcelular pasiva simple.

La difusión transcelular pasiva consiste en la captación pasiva, el transporte intracelular y la secreción basolateral hacia el torrente sanguíneo de los péptidos bioactivos (Pappenheimer y Michel, 2003). El transporte de los péptidos bioactivos mediante este sistema depende del tamaño, la carga y la hidrofobicidad de los mismos. En este aspecto, la difusión pasiva transcelular posee más apetencia por los péptidos hidrofóbicos (Xu y cols., 2019).

La mayoría de los estudios que investigan la biodisponibilidad de los péptidos bioactivos en humanos ha utilizado modelos celulares *in vitro*. Sin embargo, se deben desarrollar más experimentos *in vivo* para determinar con precisión los efectos, la biodisponibilidad, las concentraciones plasmáticas y la farmacocinética de los péptidos bioactivos en el organismo humano (Bouglé y Bouhallab, 2016).

Actualmente se conoce que las concentraciones máximas plasmáticas de la mayoría de los péptidos bioactivos se encuentran en rangos micromolares y los tiempos medios de eliminación pueden variar desde varios minutos a varias horas después de la administración oral (Xu y cols., 2019). No obstante, aún faltan datos que comprueben el tiempo que estos biopéptidos pueden permanecer en los órganos humanos.

Figura 8. Representación gráfica de la absorción intestinal de los péptidos bioactivos.



Representación gráfica de la absorción intestinal de los péptidos bioactivos en la que se muestra la penetración de los péptidos bioactivos de forma intacta, a través de diversos transportadores específicos, tras ser liberados de la digestión enzimática. Modificado de Saadi y cols, 2015.

Aunque este área sigue siendo muy desconocida, muchos oligopéptidos bioactivos se han identificado tras su ingesta en el plasma humano, lo que sugiere que pueden transportarse intactos a través de los sistemas anteriormente descritos (Sánchez-Rivera y cols., 2014).

Por otra parte, existe una serie de factores que regulan la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad de estos péptidos. En relación con la bioaccesibilidad, al igual que ocurría con los compuestos nitrogenados, esta depende en gran medida de la capacidad digestiva para degradar la MEC y las proteínas de las microalgas con la finalidad de liberar sus péptidos bioactivos (Demarco y cols., 2022).

En lo que respecta a la biodisponibilidad de los biopéptidos, pueden influir las siguientes variables (Xu y cols., 2019):

- **Tamaño del péptido y peso molecular.** Los péptidos de cadena corta se absorben en el TG con mayor facilidad y eficiencia que los péptidos de cadena larga. Además, los péptidos bioactivos con pesos moleculares pequeños tienen tasas de permeabilidad intestinal más elevadas que aquellos con pesos moleculares más altos (Sienkiewicz-Szłapka y cols., 2009).
- **Secuencias de aminoácidos.** La composición aminoacídica de los péptidos también puede alterar sus niveles de biodisponibilidad. Se ha verificado que los péptidos compuestos por residuos de leucina, metionina, prolina, valina o isoleucina presentan una alta permeabilidad (Wang y Li, 2017; Xu y cols., 2019).
- **Estabilidad de los péptidos y degradación enzimática.** La resistencia de los péptidos a la hidrólisis enzimática determina su biodisponibilidad (Shen y Matsui, 2017). Se ha sugerido que los péptidos ricos en prolina suelen ser más resistentes a la degradación por las peptidasas (Xu y cols., 2019).

1.5.1.5. Vitaminas.

Las vitaminas son importantes compuestos bioactivos pues constituyen precursores de cofactores enzimáticos y juegan un papel esencial en la eliminación de las especies reactivas de oxígeno (ERO). Entre las vitaminas sintetizadas por las microalgas destacan: las vitaminas del complejo B, la provitamina A (carotenoides), la vitamina C, la vitamina D, la vitamina E y la vitamina K1 (Rodríguez-Roque y cols., 2021). Como ya se ha citado, el contenido vitamínico de las microalgas depende de la especie y las condiciones ambientales donde se desarrollen (Levine y Fleurence, 2018).

La investigación sobre la bioaccesibilidad, la biodisponibilidad y la bioactividad de las vitaminas contenidas en las microalgas es prácticamente inexistente. No obstante, se ha observado que el consumo de microalgas puede favorecer a la microbiota intestinal provocando un aumento en la absorción de las vitaminas del complejo B y de la vitamina K (Ambrosi y cols., 2008; Tarento y cols., 2018).

Vitamina D.

Debe ser metabolizada tanto por el hígado como por el riñón para ejercer un efecto fisiológico en el organismo humano. Una vez ingerida, la vitamina D se convierte en 25-hidroxitamina D (vitamina D2) en el hígado y posteriormente se hidroxila en el riñón constituyendo su forma activa 1,25-dihidroxitamina D.(vitamina D3) (Hall, 2020). La

vitamina D es considerada prácticamente una hormona debido a que existen receptores de la misma en múltiples tejidos del organismo (Lehninger y cols., 2000; Hall, 2020). Sin embargo, no existe información actualmente sobre el porcentaje de este compuesto que se convierte en su forma activa tras la ingesta de una microalga (Rodríguez-Roque y cols., 2021).

Vitamina C.

En el caso del ácido ascórbico la captación intestinal se produce a través de los siguientes mecanismos (Rumsey y Levine, 1998; Subramanian y cols., 2018):

- Mediante un transportador activo dependiente del sodio en el íleon y en el yeyuno, denominado, SVCT1.
- A través de difusión facilitada con la ayuda de transportadores de glucosa en el duodeno y el yeyuno.

De manera similar a la vitamina D, la información sobre la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad de las vitaminas B, D, E, C y K producidas por las microalgas es muy escasa. En definitiva, teniendo en cuenta que las microalgas están capacitadas para sintetizar la forma activa de algunas vitaminas es necesario ampliar el conocimiento en este campo de investigación (Rodríguez-Roque y cols., 2021).

1.5.1.6. Minerales.

Las microalgas son una importante fuente de minerales. En modelos *in vitro* se han detectado porcentajes altos de dializabilidad situados entre el 30,0 % y el 75,0% del material inorgánico en microalgas comestibles. Esto implicaría altos niveles de biodisponibilidad de los minerales presentes en las microalgas (Moreda-Piñeiro y cols., 2012).

En función del oligoelemento se han descrito múltiples sistemas de transporte intestinales con mecanismos de regulación, tanto a nivel luminal como tisular. Inicialmente, la asimilación de los iones metálicos en sus formas biodisponibles se facilita por las secreciones intestinales, principalmente por la mucina que retarda la hidrólisis de iones como el Cu, el Fe y el Zn (Powell y cols., 1999).

Hierro.

El hierro es un mineral esencial requerido para una gran variedad de funciones fisiológicas. Entre ellas, destacan la respiración celular y la eritropoyesis. Por esta razón,

el balance de Fe debe ser estrictamente controlado a través de una serie de mecanismos reguladores. Dado que no existe un mecanismo para excretar Fe del organismo, su absorción constituye el principal sistema para controlar las concentraciones fisiológicas de Fe (Hall, 2020; Gulec y cols., 2014).

La biodisponibilidad del hierro en las microalgas está condicionada por el estatus del organismo, las necesidades fisiológicas del medio interno, el estado de oxidación del hierro, la especie de microalga consumida y la integridad de todos los mecanismos absorbivos, secretores y distributivos del Fe. Además, la bioaccesibilidad, como en prácticamente todos los componentes de las microalgas, depende de la composición de la MEC (Demarco y cols., 2022; Lozano y cols., 2005; Het y cols., 2000).

Aunque las microalgas posean una gran fama comercial por su rica composición en hierro lo importante es conocer tanto las cantidades de hierro que pueden ser extraídas de las mismas por el sistema digestivo como las que pueden ser utilizadas posteriormente en el medio interno. De este modo, la biodisponibilidad del hierro procedente de las microalgas puede llegar a ser muy variable en función de la especie y las condiciones del entorno donde se desarrollen (Demarco y cols., 2022; Rodríguez-Roque y cols., 2021). En esta línea, falta más investigación que verifique de forma precisa los niveles de bioaccesibilidad y de biodisponibilidad del hierro según la especie de microalga ingerida.

Sodio.

El sodio, junto con el hierro, es uno de los minerales más abundantes en las microalgas marinas. Tras la ingesta de las microalgas y su digestión, tres mecanismos contribuyen al transporte de Na en el intestino delgado (Kiela y Ghishan, 2016):

1. La absorción de Na^+ acoplada a nutrientes mediada por varias familias de transportadores dependientes de Na^+ , como los transportadores de azúcares o aminoácidos (Lehninger y cols., 2000).
2. La absorción electroneutral de cloruro sódico (NaCl) mediada principalmente a través del mecanismo de intercambio Na^+/H^+ (Kiela y cols., 2006).
3. La absorción electrogénica de Na^+ predominante en el colon (Kiela y Ghishan, 2016).

La absorción electroneutral de Na^+ se atribuye a los transportadores de la familia SLC9 de intercambiadores de Na^+ y H^+ . Se han identificado tres isoformas de estos transportadores en la membrana apical de los enterocitos: el NHE2, el NHE3 y el NHE8.

De estas tres isoformas, el NHE3 contribuye de manera más significativa a la absorción intestinal del Na⁺ de las microalgas (Collins y cols., 1993; Kiela y Ghishan, 2016).

Por otra parte, la absorción electrogénica del Na⁺ predomina en el colon descendente, en el sigmoides y en el recto, atribuyéndose más comúnmente a la actividad de los canales apicales de sodio del epitelio intestinal regulados por los mineralocorticoides (Kiela y Ghishan, 2016).

Magnesio.

El magnesio (Mg) es un elemento presente en las microalgas e implicado en gran cantidad de funciones fisiológicas (Levine y Fleurence, 2018).

Tras la digestión de los componentes de las microalgas, la absorción intestinal del Mg se produce predominantemente en el intestino delgado a través de diversas vías paracelulares (Graaf y cols., 2007). También se absorben cantidades más pequeñas en el colon mediante rutas transcelulares (Kiela y Ghishan, 2016). En humanos, la absorción de Mg comienza aproximadamente tras la primera hora de su ingesta oral. Transcurridas las 6 horas, se completa la absorción del Mg (Ranade y Somberg, 2001). Además, el porcentaje de absorción varía en función de la bioaccesibilidad enzimática y de la especie de microalga ingerida (Planes y cols., 2002).

Se ha considerado que la ruta absorptiva de Mg más importante es la paracelular. En este sentido, se ha planteado la hipótesis de que la vía paracelular contribuye exclusivamente a la absorción de Mg en el intestino delgado por dos razones: la primera es que el canal de receptores de potenciales transitorios de tipo 6 (RPTM6) (transcelular) no se expresa en el intestino delgado y la segunda razón se fundamenta en que la absorción de Mg en esta región se correlaciona linealmente con sus concentraciones lumbales (Graaf y cols., 2007). La absorción paracelular de Mg se produce por difusión simple e implica el transporte de Mg a través de pequeños espacios formados esencialmente por la proteína claudina y ubicados entre las células del epitelio intestinal, cuya función consiste en controlar la permeabilidad iónica de dichos canales (Graaf y cols., 2007; Kiela y Ghishan, 2016).

Por otra parte, como se ha mencionado anteriormente, existe otra vía transcelular de absorción del magnesio mediada por los transportadores RPTM6 y RPTM7 que son miembros de la familia de receptores de potenciales transitorios (RPT) (Kiela y Ghishan, 2016).

La tasa de absorción del Mg ingerido por vía oral tras el consumo de las microalgas está influenciada por varios factores endógenos y exógenos. En particular, el contenido de Mg de la especie de microalga ingerida y la presencia de componentes dietéticos inhibidores o potenciadores de su absorción representan variables importantes que condicionan la tasa de biodisponibilidad de este mineral. Además, como en todos los componentes de las microalgas, la composición de la MEC en celulosa y otros polisacáridos influye directamente en la liberación del contenido de Mg al TG (Demarco y cols., 2022; Levine y Fleurence, 2018; Rodríguez-Roque y cols., 2021).

La determinación precisa de la absorción del Mg y su cinética tras el consumo de microalgas es complejo. En este aspecto, algunos estudios de biodisponibilidad convencionales, que monitorean los niveles de Mg en plasma después de su administración oral, son insuficientes para calcular la tasa y la cantidad de absorción de Mg. Esto ocurre porque las concentraciones de Mg están sujetas a una homeostasis muy rápida, impulsada principalmente por la función renal así como por el equilibrio excreción/almacenamiento de Mg óseo, lo cual impide una evaluación precisa de las concentraciones de Mg en función del tiempo (Hall, 2020; Planes y cols., 2002; Ranade y Somberg, 2001).

Selenio.

El Se es un mineral con funciones muy importantes entre las que destacan el mantenimiento del potencial óxido-reductor celular y la síntesis de selenoproteínas (Ferreira y cols., 2021). En las microalgas el selenio se encuentra más comúnmente como selenito (SeO_3^{2-}) o selenato (SeO_4^{2-}) (Levine y Fleurence, 2018). Tras la ingesta del Se contenido en las microalgas, este se absorbe en el tracto gastrointestinal y posteriormente se transporta al hígado, donde se metaboliza y se emplea para producir las selenoproteínas (Fairweather-Tait y cols., 2010).

La absorción intestinal del selenio inorgánico presente en las microalgas se realiza a través de transporte pasivo mediante diversos intercambiadores de aniones de la familia del gen SLC26 (Ferreira y cols., 2021). Posteriormente, a través de una secuencia de reacciones que ocurren en el interior del enterocito, todas las formas de selenio se convierten en seleniuro de hidrógeno (H_2Se) (Daniels, 1996). Este último compuesto se transporta en sangre unido a lipoproteínas de baja y muy baja densidad, LDL y VLDL respectivamente, hasta llegar al hígado donde se forman las selenoproteínas (Ferreira y

cols., 2021). Posteriormente, el transporte del Se a otros tejidos como los testículos, los riñones o el encéfalo se produce principalmente en su forma selenoproteína P (SELENOP) internalizada en los tejidos diana a través de endocitosis mediada por el receptor 2 de apolipoproteína E y la megalina (Fairweather-Tait y cols., 2011).

Se ha evidenciado que todas las formas de selenio se absorben eficientemente. En este contexto, parece ser que en las formas de selenato y selenito se absorben mejor que en las orgánicas pero se retienen menos en el organismo que estas últimas (Ferreira y cols., 2021).

Se han utilizado varios enfoques para medir la biodisponibilidad del selenio. Sin embargo, las selenoproteínas han sido ampliamente establecidas como biomarcadores para verificar el estado del selenio en el organismo. La SELENOP constituye la selenoproteína que más se correlaciona con el selenio plasmático, llegando a representar aproximadamente la mitad del selenio total en plasma (Combs, 2015).

Aunque el selenio se absorba con facilidad y se hayan desarrollado multitud de técnicas de medición, actualmente no es posible asignar cifras específicas de su biodisponibilidad en microalgas, debido a la complejidad farmacológica de estos productos (Demarco y cols., 2022; Rodríguez-Roque y cols., 2021). No obstante, recientemente se ha investigado la bioaccesibilidad del selenio *in vitro* de la microalga *Chlorella sorokiniana* enriquecida con Se (Gómez-Jacinto y cols., 2020). Estos autores verificaron que el 81% del total de Se era bioaccesible. Este dato hay que interpretarlo con cautela, pues es necesario considerar que dichas microalgas se encontraban enriquecidas artificialmente con Se y el estudio se realizó en condiciones *in vitro*.

Zinc.

El zinc ingerido de las microalgas se absorbe principalmente en el duodeno y el yeyuno. El transportador de Zn ZIP4 se expresa en la membrana apical de las células epiteliales intestinales y el ZNT1 en la membrana basolateral de las mismas. Ambos juegan un papel crítico en la absorción del Zn. Por una parte, el ZIP4 transporta el Zn desde la luz del TG hacia el interior de los enterocitos, y por otra el ZNT1 lo exporta hacia la sangre portal. Una vez el Zn se secreta a la sangre portal se une a la albúmina y a la macroglobulina α_2 para ser transportado hasta el hígado y distribuirse posteriormente a los tejidos periféricos (Hashimoto y Kambe, 2022; Kambe y cols., 2015).

La expresión de ZNT1 y ZIP4 se encuentra regulada por las concentraciones de Zn en el organismo. En condiciones de deficiencia de Zn, el ARNm que codifica para la síntesis de estos transportadores se estabiliza, de manera que se incrementa la acumulación de los mismos en las membranas de los enterocitos. Por el contrario, en condiciones de exceso de Zn ambos transportadores son sometidos a endocitosis, degradados rápidamente por la vía lisosomal y la proteosómica (Weaver y cols., 2007). Además, la hormona HP, descrita en anteriores apartados, también parece atenuar la expresión de ZNT1 e influir en su exportación desde los enterocitos hasta el torrente circulatorio (Hennigar y McClung, 2016).

Los datos de bioaccesibilidad y biodisponibilidad del Zn en microalgas son muy limitados. En este aspecto, se ha experimentado con modelos de digestión *in vitro* de la microalga *Chlorella vulgaris*. Estos modelos han registrado que el 45% del total del Zn contenido en esta microalga es bioaccesible. Sin embargo, en estos modelos no ha sido posible calcular los valores de la biodisponibilidad del Zn (Milinki y cols., 2011).

En definitiva, desde un punto de vista fisiológico, las microalgas poseen una composición bioquímica muy interesante. No obstante, se desconocen las cinéticas de muchos de sus elementos en el organismo humano. Por ello, actualmente no existen datos precisos que avalen los niveles de biodisponibilidad que poseen dichas sustancias tras su ingesta oral, lo cual implica que se desconozca el grado en el que dichos elementos influyen en el organismo humano tras su ingesta oral, aunque se comprendan muy bien los efectos fisiológicos de muchos de los componentes contenidos en las microalgas.

1.5.2. Efectos de las microalgas en el organismo humano: aspectos farmacodinámicos generales y bases fisiológicas.

Una vez descritos los mecanismos a través de los cuales los elementos de las microalgas acceden al organismo humano, en esta sección se desarrollan los efectos finales que dichas sustancias poseen tras interactuar con los tejidos diana desde una perspectiva de la fisiología de sistemas. Por ello, este epígrafe se encuentra íntimamente vinculado con la farmacodinámica de las microalgas.

Con la finalidad de mejorar la comprensión de los posibles efectos de las microalgas, se ha considerado necesario realizar una clasificación de los mismos en función de los principales sistemas fisiológicos afectados, pero se enfatiza solamente en los sistemas relevantes para el desarrollo del presente trabajo.

1.5.2.1. Efectos hematológicos de las microalgas.

Hematopoyesis: bases fisiológicas.

La ubicación histológica de la hematopoyesis varía en función de la fase vital. En las primeras semanas de gestación, el saco vitelino es el lugar principal de la hematopoyesis. Posteriormente, hasta los 6 – 7 meses de vida fetal, el hígado y el bazo constituyen los órganos hematopoyéticos más importantes y continúan produciendo células sanguíneas hasta 2 semanas después del nacimiento (Hall, 2020). De una forma definitiva, la médula ósea representa la única fuente de nuevas células sanguíneas durante la infancia y la vida adulta. Cabe destacar que en ciertos estados anómalos, el hígado y el bazo pueden reanudar su estado hematopoyético fetal produciendo la denominada hematopoyesis extramedular (Moraleda, 2017).

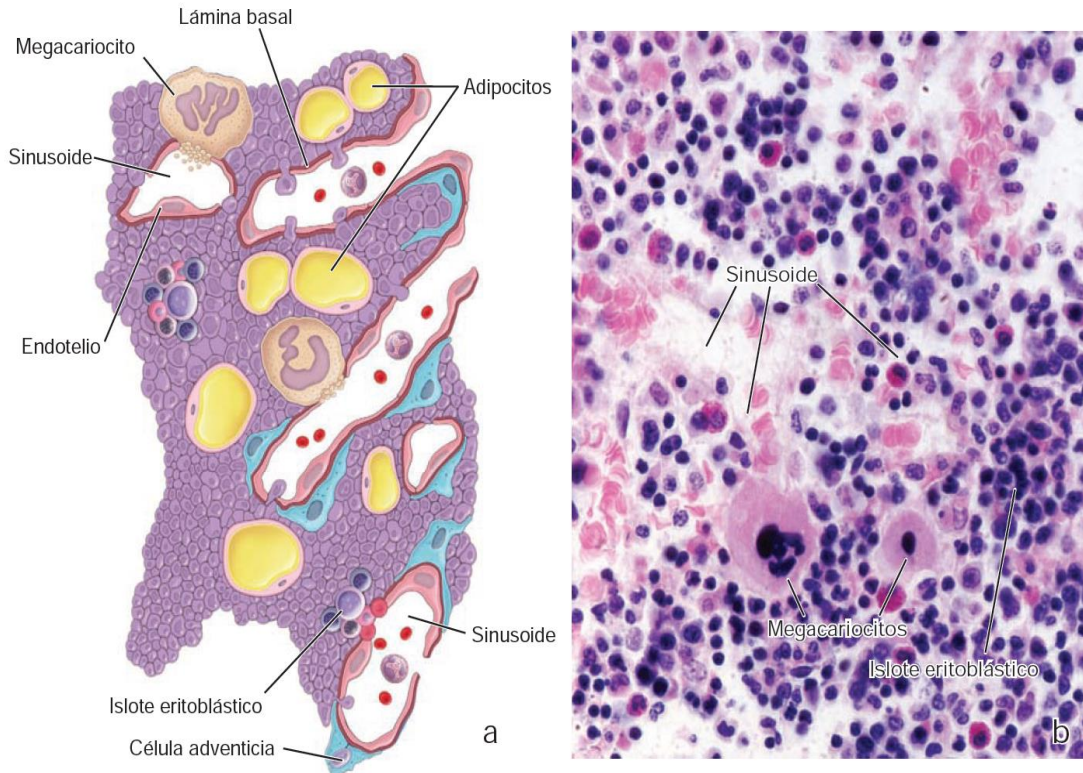
La médula ósea se encuentra capacitada para producir un amplio abanico de tipos celulares. Se trata de un tejido arquitectónicamente complejo que alberga células de los linajes hematopoyéticos (precursores de las células sanguíneas y las propias células sanguíneas maduras), mesenquimatosos (adipocitos, osteoblastos y condrocitos) y endoteliales (angioblastos) (Velten y cols., 2017).

Las células madres hematopoyéticas (CMH) poseen capacidad de autorrenovación indefinida. Estas pueden dividirse lentamente, constituyendo las CMH de ciclo largo. También existen CMH que tienen un ciclo celular más rápido, representando las CMH de ciclo corto. Las CMH se localizan organizadas en microambientes o nichos especializados, que se distribuyen de forma ordenada en el interior de la médula ósea (Tsiftoglou y cols., 2009).

Se ha reconocido ampliamente la existencia de dos tipos de nichos medulares: el endóstico y el perivascular. El nicho endóstico se ubica en la interfaz entre el hueso y la médula ósea predominando las CMH de división lenta o ciclo largo mientras que el nicho perivascular se localiza próximo a los sinusoides medulares predominando las CMH de división rápida. Debido a la ubicación y a los tipos de CMH de los nichos, estos desempeñan funciones diferentes. El nicho endóstico se encuentra especializado en la diferenciación de sus CMH hacia el linaje esquelético y las CMH del nicho perivascular se especializan predominantemente en la diferenciación hematopoyética y endotelial. Además, cabe destacar que en ambos nichos puede darse cualquier tipo de diferenciación

aunque predomine más uno que otro (Saldívar-Santoyo, 2013; Ho y cols., 2015; Tsiftoglou y cols., 2009).

Figura 9. Médula ósea con hematopoyesis activa.



a: se aprecia una representación esquemática de la médula ósea en la que se observan los nichos eritoblásticos productores de eritrocitos y los megacariocitos que liberan las plaquetas hacia los sinusoides medulares. b: fotomicrografía ósea de un centro hematopoyético medular activo. Tomado de Pawlina y Ross, 2016.

Los procesos hematopoyéticos se llevan a cabo paralelamente en muchos tipos celulares con distintos grados de diferenciación que están directamente condicionados por el microambiente medular. De este modo, se ha establecido un orden jerárquico de la hematopoyesis en función de los niveles de diferenciación celular. En el ápex de este modelo se ubican las células madres multipotentes, con capacidad de autorrenovarse indefinidamente. Dichas células se encuentran en estado quiescente, pero al ser estimuladas por diversos mediadores presentes en la médula ósea, se activa el ciclo celular y proliferan diferenciándose progresivamente en los diferentes tipos celulares. Además, en el transcurso de este proceso influyen múltiples factores de estimulación que dirigen la diferenciación hacia un linaje celular u otro (Ho y cols., 2015; Moraleda, 2017).

De acuerdo con lo anterior, en la médula ósea se pueden distinguir los siguientes tipos celulares (Moraleda, 2017):

- **Unidades formadoras de colonias linfoides y mieloides (UFC-LM).** Son células madre con capacidad de autorrenovación que derivan hacia la diferenciación de linfocitos y mielocitos.
- **Unidades formadoras de colonias megacariocíticas, monocíticas, eritroides y granulocíticas (UFC-GEMM).** Al igual que las anteriores son células madre que tienden a diferenciarse hacia los megacariocitos, monocitos, eritrocitos y granulocitos.
- **Células precursoras.** Son células que pueden identificarse a través del microscopio, como los eritroblastos y los promonocitos.
- **Células maduras.** Se caracterizan por no poseer potencial de división y tener especialización funcional, como los hematíes, los linfocitos, etc.

El proceso de diferenciación hematopoyético se encuentra dirigido por el ambiente local del nicho medular. Este ambiente depende tanto de la presencia de factores estimuladores del crecimiento hematopoyético como de la bioseñalización celular procedente de otras células del estroma medular. Por lo tanto, según las características del entorno bioquímico del nicho medular, las células se diferencian hacia un linaje determinado u otro (Ho y cols., 2015; Tsiftoglou y cols., 2009).

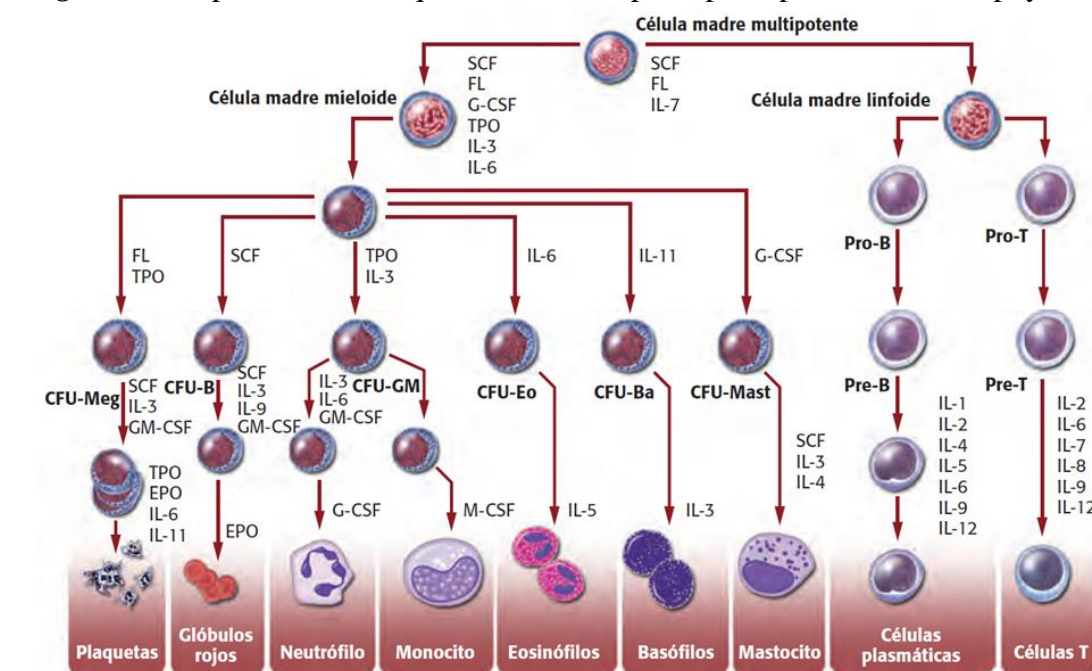
En este aspecto, existen los denominados factores estimuladores del crecimiento de colonias (CSF). Estas moléculas regulan la proliferación y la diferenciación de las distintas series celulares. Además, dichos factores optimizan la función de las células maduras (Velten y cols., 2017). Los CSF se clasifican de la siguiente forma según los estadios de diferenciación donde intervengan (Hoffbrand y Steensma, 2020; Moraleda, 2017):

1. Los CSF de clase I estimulan los progenitores hematopoyéticos que se encuentran en estadios iniciales de diferenciación. Entre ellos, destaca el factor de células madre (c-kit), el factor de estimulación del crecimiento para progenitores mieloides (GM-CSF) y las citocinas IL-3, IL-6, IL-11, IL-12 e IL-7.
2. Los CSF de clase II estimulan a las células hematopoyéticas que ya se encuentran en un nivel de diferenciación más alto. Entre estos, se halla el factor de estimulación del crecimiento para monocitos (M-CSF); el factor de estimulación del crecimiento para neutrófilos (G-CSF); la IL-4 que estimula a los basófilos y a los mastocitos; la IL-5 que favorece el desarrollo y

funciones de los eosinófilos; la eritropoyetina (EPO) que regula tanto el crecimiento como la diferenciación de toda la serie eritroide y la trombopoyetina que controla la serie plaquetaria.

Estos factores pueden tener naturaleza paracrina, como las interleucinas secretadas por los macrófagos y los fibroblastos del entorno medular. Igualmente, otros factores pueden poseer carácter endocrino, como es el caso de la EPO sintetizada en las células intersticiales del riñón y distribuida al torrente sanguíneo hasta llegar a la médula ósea (Hoffbrand y Steensma, 2020).

Figura 10. Representación esquemática de los principales procesos hematopoyéticos.



Representación esquemática de los principales procesos hematopoyéticos donde se puede apreciar las diferentes influencias de las citocinas y factores de crecimiento según el linaje celular. Tomado de Moraleda Jiménez y cols. 2017.

Por otra parte, existen factores inhibidores de la hematopoyesis. Entre los supresores más comunes se han identificado los siguientes: diversas citocinas proinflamatorias (IL-1), el factor de necrosis tumoral (TNF), ciertos tipos de interferones (IFN), las chalonas, y las proteínas inflamatorias de macrófagos (MIP) (Moore y Knight, 2016). Se debe resaltar aquí que algunas de estas moléculas poseen acciones opuestas, es decir, dependiendo del linaje celular en el que actúen pueden tener funciones inhibitoras o estimuladoras. Un claro ejemplo de esta situación lo constituye el TNF. Se ha evidenciado que el TNF inhibe los procesos eritropoyéticos pero también puede llegar a estimular los

mecanismos de formación de las células que forman parte del sistema inmune a través de la inducción del G-CSF y el M-CSF (Castellani y cols., 2019).

Eritropoyesis

La eritropoyesis humana es un proceso dinámico secuencial que implica la diferenciación de los progenitores eritroides tempranos en glóbulos rojos enucleados. La finalidad de la eritropoyesis es mantener unas concentraciones sanguíneas de hematíes constantes para satisfacer con garantías los requerimientos de oxígeno de los tejidos (Tsiftoglou y cols., 2009).

Al igual que el proceso hematopoyético general, la eritropoyesis consta de una serie de pasos compuestos por diferentes tipos celulares que, a medida que van diferenciándose, pierden la capacidad de proliferar. El primer tipo celular progenitor especializado en la línea eritroide es la unidad formadora de estallido eritroide (BFU-E). Tal y como su propio nombre indica induce la formación de cientos de células rojas en la médula ósea. Posteriormente, el BFU-E se diferencia hacia la unidad formadora de colonias eritroides (CFU-E). Tras la maduración de la CFU-E, comienzan a diferenciarse los proeritroblastos (PE), que constituyen las primeras células de la serie roja que pueden identificarse morfológicamente a través de la microscopía óptica (Hoffbrand y Steensma, 2020; Jiménez, 2017).

A partir de este punto, se inicia un mecanismo de transformación de los proeritroblastos en eritroblastos con diferentes características nucleares. Este proceso tiene como finalidad la expulsión del núcleo celular a través de la maduración del citoplasma de los eritroblastos (Moore y Knight, 2016). En un período comprendido entre 5 y 8 días de maduración en la médula ósea, cada proeritroblasto puede producir hasta 30 reticulocitos enucleados (Jiménez, 2017; Tsiftoglou y cols., 2009). Aunque estos reticulocitos ya han perdido la capacidad de dividirse, permanecen durante 24 horas en el interior de la médula ósea antes de exportarse al torrente circulatorio, lugar en el que maduran transformándose definitivamente en hematíes maduros, aproximadamente 10 veces menores que el proeritroblasto y cargados de hemoglobina (Hb) (Hoffbrand y Steensma, 2020; Jiménez, 2017).

Para que la secuencia anterior de pasos se desarrolle con éxito y tenga lugar la formación de hematíes normales, son necesarios dos factores clave: el suministro de hierro para la formación de la Hb, pues las unidades formadoras carecen de este elemento,

y la influencia de los diferentes factores de la estimulación del crecimiento de las colonias eritroides (Pasricha y cols., 2021; Silvestri y Nai, 2021; Vittori y cols., 2021).

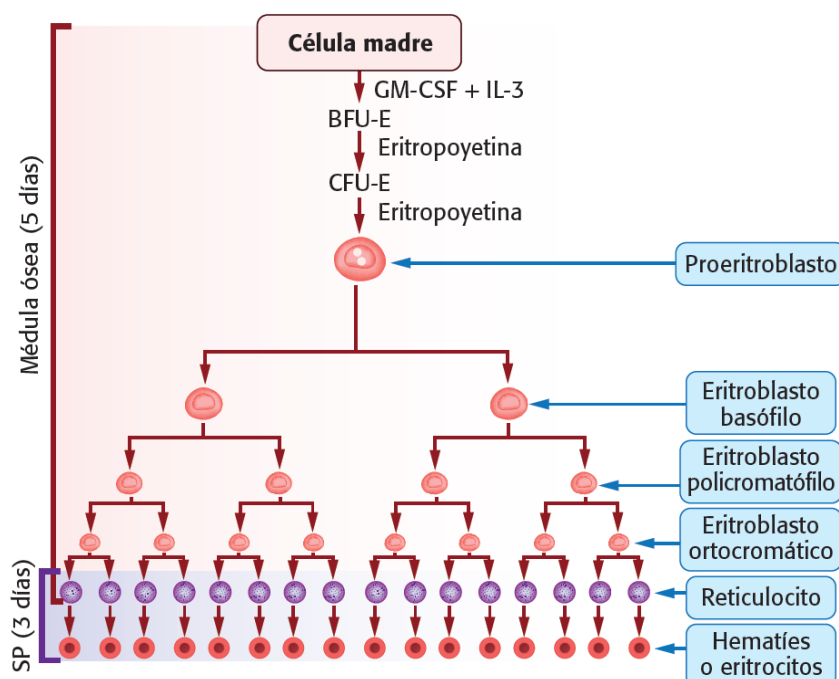
La EPO es la hormona más importante en la regulación de la eritropoyesis y para llevar a cabo sus acciones necesita la presencia de receptores específicos en las células eritropoyéticas de la médula ósea. Se ha verificado que los receptores para la EPO son muy abundantes en las CFU-E en comparación con las BFU-E donde también existen, pero en menor medida (Broudy y cols., 1991). Igualmente, en los proeritroblastos, se han evidenciado numerosos receptores para la EPO. De este modo, la EPO optimiza la supervivencia y la proliferación de todos los progenitores eritropoyéticos y provoca la diferenciación de las CFU-E en proeritroblastos (Broudy y cols., 1991; Jiménez, 2017). Además, esta hormona aumenta la eficiencia de todos los procesos eritropoyéticos por lo que las altas concentraciones de EPO pueden llegar incluso a disminuir el tiempo necesario de maduración de los proeritroblastos en la médula ósea (Jiménez, 2017). Esta situación implicaría la exportación de los reticulocitos al torrente circulatorio en un intervalo temporal menor que el anteriormente mencionado (Haile y cols., 2019; Jiménez, 2017; Tilbrook y Klinken, 1999).

Por otra parte, la Hb constituye el elemento esencial para el transporte de oxígeno en el hematíe. Para sintetizar esta molécula, se requiere la producción de la proteína globina y de cuatro grupos hemo. En este aspecto, los eritroblastos poseen todos los mecanismos necesarios para la formación de Hb. Sin embargo, no contienen Fe, elemento indispensable. Por lo tanto, el Fe es captado gracias a la transferrina que lo transporta hasta las CFU-E en cuya superficie celular se expresan una gran cantidad de receptores para la transferrina (CD71). De esta manera, el Fe se internaliza en la célula y es utilizado por los proeritroblastos y eritroblastos para sintetizar la Hb (Doty y cols., 2015; Moore y Knight, 2016).

Como ya se ha descrito, la regulación de la eritropoyesis está mediada principalmente por la EPO. Esta hormona es de naturaleza glucoproteica y un 90% del total de sus concentraciones plasmáticas es sintetizada por las células peritubulares del riñón, concretamente a través de los fibroblastos intersticiales. También alrededor de un 10% de la EPO restante, se puede llegar a formar en los hepatocitos y en otros tejidos extrarrenales (Weidemann y Johnson, 2009).

La caída de la presión parcial de oxígeno (pO_2), representa el estímulo principal que induce la secreción de EPO. Esta disminución de la pO_2 desencadena un aumento de la actividad del factor inducible por la hipoxia 1 (HIF-1) que, a través de una serie de vías de bioseñalización, induce un incremento de la transcripción del gen que codifica para la EPO. Esto implica un aumento de su producción, así como de sus concentraciones plasmáticas. Además, se ha evidenciado que los andrógenos pueden unirse a los receptores androgénicos de los fibroblastos intersticiales renales e inducir un aumento de la EPO (Jelkmann, 2016; Warren y Grossmann, 2022).

Figura 11. Representación esquemática de la eritropoyesis.



Representación esquemática de la eritropoyesis en la que se aprecian tanto los diferentes factores estimuladores de la misma como los productos moleculares que se derivan de esta. Tomado de Moraleda y cols. 2017.

Muchos autores sostienen que los andrógenos sensibilizan a las células madre de la médula ósea a la EPO, pues en estas células también existen receptores androgénicos (Ballal y cols., 1991; Brockenbrough y cols., 2006). Además, se han realizado trabajos donde se verifica que los andrógenos poseen efectos estimuladores directos sobre las células eritropoyéticas de la médula ósea, promoviendo la eritropoyesis (Ballal y cols., 1991; Brockenbrough y cols., 2006; Warren y Grossmann, 2022).

Por otra parte, la eritropoyesis también puede verse alterada por otras influencias distintas a la EPO. Entre ellas, destacan los procesos de hemólisis, donde ciertos componentes contenidos en la estructura del hematíe al ser liberados pueden interaccionar con la médula ósea promoviendo la eritropoyesis sin necesidad de aumentar las concentraciones de la EPO (Moraleda, 2017).

El hierro es un oligoelemento indispensable para la eritropoyesis, por lo que los factores que regulan su metabolismo, descritos en anteriores apartados, también pueden influir en la eritropoyesis. En este caso, cuando hay anomalías de la síntesis de la Hb se producen alteraciones en la diferenciación de las células eritropoyéticas, dando lugar a talasemias, anemias sideroblásticas y anemias ferropénicas (la más comunes) (Gladwin y Ofori-Acquah, 2014; Hoffbrand y Steensma, 2020; Pasricha y cols., 2021).

Finalmente, para abastecer las exigencias de las múltiples proliferaciones celulares de la médula ósea en la serie eritropoyética, como es natural, se requiere biosintetizar grandes cuantías de ADN. Esto es debido a que todas las células de la médula ósea eritropoyéticas, exceptuando a los reticulocitos, tienen núcleo. Por lo tanto, son necesarias concentraciones adecuadas de ácido fólico y vitamina B12 pues estas intervienen de forma crucial en la biosíntesis de material genético (Hall, 2020; Hoffbrand y Steensma, 2020; Moore y Knight, 2016).

Formación de la serie blanca.

Al igual que en la eritropoyesis, la formación de la serie blanca comienza con una célula multipotente que es dirigida hacia un linaje u otro. En este sentido, se ha demostrado que la IL-3 juega un rol fundamental en la dirección del proceso de formación de la serie blanca y plaquetaria (Moraleda, 2017).

Si la célula multipotente primaria se ve afectada por la presencia de IL-3 da lugar a un progenitor o célula madre mieloide. No obstante, cuando no existen las influencias de esta citocina, la célula multipotente se diferencia hacia un progenitor o célula madre linfoide (Peakman y Vergani, 2011).

La diferenciación del progenitor mieloide también se ve muy condicionada por la presencia de IL-3. De este modo, si no actúa esta citocina, se diferencia en una célula dendrítica (Peakman y Vergani, 2011). Por lo contrario, si existen abundantes concentraciones de IL-3 el progenitor linfoide se diferencia en la unidad formadora de granulocitos, eosinófilos, monocitos y megacariocitos (CFU-GEMM). En este punto de

la secuencia hematopoyética, según la presencia de distintas citocinas y factores estimuladores, la CFU-GEMM se diferencia hacia los siguientes tipos celulares (Moraleda, 2017; Peakman y Vergani, 2011; Ramírez, 2007):

- **Estímulo por parte de GM-CSF e IL-3.** Se diferencia hacia BFU-E, iniciándose el proceso eritropoyético descrito anteriormente.
- **Estimulación de IL-6 e IL-5.** En este caso tras el estímulo de IL-6 se favorece la diferenciación hacia la unidad formadora de colonias de eosinófilos (CFU-Eo). Posteriormente si la CFU-Eo se ve afectada por la estimulación de la IL-5 se diferencia en un eosinófilo maduro (E) que es exportado al torrente sanguíneo para cumplir sus funciones.
- **Predominio de la IL-11.** Se deriva hacia la diferenciación de la unidad formadora de colonias de basófilos (CFU-Ba). En este caso, la influencia de la IL-3 vuelve a ser crucial para la diferenciación de la CFU-Ba en basófilos maduros que se secretan a la circulación sistémica.
- **Estimulación repetida por parte de la IL-3.** Se diferencia en la unidad formadora de colonias de granulocitos y monocitos (CFU-GM). La CFU-GM puede diferenciarse en neutrófilos maduros en presencia de G-CSF. Por otra parte, en caso de que actúe el M-CSF se diferencia en monocitos maduros.

Todos estos fenómenos se llevan a cabo si la IL-3 actúa sobre la primera célula multipotencial. Sin embargo, cuando esto no ocurre, la célula multipotencial se diferencia en un progenitor linfoide. A partir de este acontecimiento pueden ocurrir los siguientes sucesos:

- El progenitor linfoide puede exportarse directamente al torrente sanguíneo, transformándose en timocitos, definidos así porque su fase de maduración y diferenciación final tiene lugar en el timo en presencia de la IL-7 (Peakman y Vergani, 2011).
- Por otra parte, el precursor linfoide puede permanecer en la médula ósea. En esta situación, si actúa la IL-7 se diferencia en célula pro-B desarrollándose hacia una célula pre-B que, tras un proceso de reordenamiento de su material genético, es exportada a la periferia como linfocito B *naive* o virgen (Peakman y Vergani, 2011; Ramírez, 2007). Para acabar de madurar y transformarse en las denominadas células plasmáticas productoras de anticuerpos, este tipo de linfocito debe encontrarse con el antígeno correspondiente en los ganglios

linfáticos (E. Ramírez, 2007). Además, si en la médula ósea no actúa la IL-7 sobre el progenitor linfoide, este se diferencia en célula *Natural Killer* (NK) (Moraleda, 2017; Naume y Espevik, 1994; Peakman y Vergani, 2011).

Tras la liberación de todas las anteriores células de la serie blanca a la circulación sistémica, estas funcionan bajo los códigos fisiológicos del sistema inmune, el cual se describe en el próximo apartado, debido a su complejidad.

Serie plaquetaria.

Partiendo de una célula madre multipotente, en presencia de trombopoyetina (TPO), se facilita la diferenciación hacia la unidad formadora de megacariocitos (CFU-Meg). Posteriormente, si la CFU-Meg es estimulada por la IL-6, IL-11 o la TPO se forman los megacariocitos (MEG). Seguidamente, los MEG se dividen en pequeños fragmentos enucleados formando las plaquetas. Estas últimas, son exportadas a la circulación sistémica (Moraleda, 2017; Thon y Italiano, 2010).

Las plaquetas son pequeños fragmentos enucleados procedentes de los megacariocitos que circulan en la sangre y juegan un papel crucial en el manejo de la integridad vascular y la regulación de la hemostasia. Principalmente, las plaquetas han sido asociadas a la hemostasia, es decir, a la coagulación de la sangre. Sin embargo, la hemostasia no es la única función de las plaquetas, pues intervienen en multitud de situaciones controlando la homeostasis del organismo. Aunque las plaquetas son muy dinámicas, generalmente suelen permanecer inactivas pero se activan cuando se daña un vaso sanguíneo (Ghoshal y Bhattacharyya, 2014).

El principal sitio diana de las plaquetas lo constituye el subendotelio de los vasos sanguíneos dañados, donde se establece la hemostasia. Además, varios estímulos proagregantes también conocidos como agonistas plaquetarios promueven la adhesión de las plaquetas a las superficies subendoteliales. Durante este proceso, las plaquetas modifican su morfología, liberan el contenido de sus gránulos y gradualmente van formando agregados entre ellas con el fin principal de minimizar la pérdida de sangre (Ghoshal y Bhattacharyya, 2014; Vinik y cols., 2001).

La ultraestructura plaquetaria revela sus particularidades fisiológicas. En este sentido, las plaquetas son únicas en su ensamblaje estructural. Aunque son enucleadas, poseen mitocondrias, lo cual les otorga una gran funcionalidad metabólica (Ghoshal y Bhattacharyya, 2014). Además, la membrana plasmática de las plaquetas está compuesta

por una bicapa fosfolipídica que constituye el lugar de expresión de diferentes receptores de superficie. Entre estos receptores destacan el receptor del adenosín 5'-difosfato (GPCR) y el receptor del fibrinógeno (IIB-III A) (Blair y Flaumenhaft, 2009).

Las plaquetas poseen, además, un sistema canalicular abierto (SCA) que permanece conectado con la membrana plasmática y facilita la entrada de elementos externos en las plaquetas, así como la liberación del contenido de sus gránulos al exterior (Behnke y Forer, 1998; Michelson, 1992).

Estos gránulos pueden ser de varias clases, pero los principales son: los gránulos alfa y los gránulos densos. En los gránulos se almacenan moléculas biológicamente activas. Entre otras, se encuentran las involucradas en la coagulación sanguínea, en el reclutamiento de las células inflamatorias y en la reparación de los tejidos (Hoffbrand y Steensma, 2020). Los gránulos alfa contienen factores de crecimiento así como todo el arsenal de proteínas necesario para iniciar la cascada de coagulación y adherirse al endotelio (Ghoshal y Bhattacharyya, 2014). Por otra parte, los gránulos densos almacenan diferentes moléculas relacionadas con la hemostasia que se secretan durante la activación plaquetaria, incluyendo las catecolaminas, la adenosina 5' difosfato (ADP) y la serotonina (Thon y Italiano, 2012).

Las plaquetas circulan continuamente por el torrente sanguíneo y ante un estímulo que implique su activación modifican su morfología emitiendo pseudópodos. Esto facilita la formación de pequeños agregados entre las diferentes plaquetas circulantes próximas al estímulo desencadenante (Ghoshal y Bhattacharyya, 2014). A continuación, las plaquetas se contraen y secretan el contenido de sus gránulos, cuyas moléculas biológicamente activas estimulan la reparación del tejido dañado y la coagulación. También activan otras plaquetas del entorno más próximo para reclutarlas (Moore y Knight, 2016).

Durante el proceso de agregación plaquetaria se pueden destacar dos puntos bioquímicos clave:

El primer punto se fundamenta en la regulación de la agregación plaquetaria a través del equilibrio tromboxano/prostaciclina. Generalmente, ambas moléculas constituyen prostanooides procedentes del ácido araquidónico, sintetizados gracias a la acción de la ciclooxigenasa (COX) sobre los fosfolípidos de la membrana plasmática. Sin embargo, las plaquetas poseen una enzima específica, la tromboxano sintetasa, encargada de la

síntesis de tromboxano plaquetario. También, existe otra enzima específica en el endotelio vascular, la denominada prostaciclín-sintetasa, cuya función consiste en la síntesis de prostaciclínicas (Canzano y cols., 2021; Hammarstrom y Falardeau, 1977).

Durante la activación plaquetaria, el tromboxano producido por las plaquetas es secretado al exterior aumentando la agregación plaquetaria y favoreciendo la vasoconstricción. Por su parte, las prostaciclínicas liberadas del endotelio se adhieren a diversos receptores de las plaquetas circulantes, incrementando la función de la adenilciclase plaquetaria. Este proceso tiene como consecuencia el aumento de las concentraciones de AMPc intraplaquetario que actúa inhibiendo a las plaquetas próximas a la lesión que aún no se han activado. Por lo tanto, en función de las necesidades fisiológicas, a través de la modulación de este equilibrio, se puede obtener un ambiente más pro-agregante o anti-agregante (Gryglewski y cols., 1988; Lellouche y cols., 1991).

El segundo punto hace referencia al receptor IIB-III A que constituye un elemento clave durante la agregación plaquetaria. En este aspecto, como consecuencia de las lesiones tisulares se liberan cantidades considerables de fibrinógeno al torrente circulatorio. Esta molécula se une por uno de sus extremos al receptor plaquetario activado IIB-III A de una plaqueta y su extremo libre restante se liga con otra plaqueta circulante que también posea sus receptores activos. Consecuentemente, el fibrinógeno promueve la agregación plaquetaria (Bennett, 2001; Hoffbrand y Steensma, 2020).

Se ha demostrado que el receptor del ADP se encuentra estrechamente ligado al receptor IIB-III A. De este modo, cuando el receptor acoplado a proteína G (GPCR) se activa por el ADP liberado de los gránulos de otras plaquetas en funcionamiento se induce la estimulación del receptor del fibrinógeno, favoreciéndose la agregación plaquetaria (Mustard y Packhman, 1978).

Efectos hematopoyéticos de las microalgas: bases farmacodinámicas.

En este apartado, tras contextualizar las bases fisiológicas que rigen a la hematopoyesis, se detallan los posibles efectos que poseen las microalgas sobre los diferentes mecanismos hematopoyéticos. Cabe destacar que, hasta la fecha, los posibles mecanismos de acción hematopoyéticos mediados por las microalgas son altamente desconocidos. En este aspecto, diferentes trabajos han registrado ciertas variaciones en el recuento de algunas series celulares tras el consumo de microalgas. Sin embargo, aún no

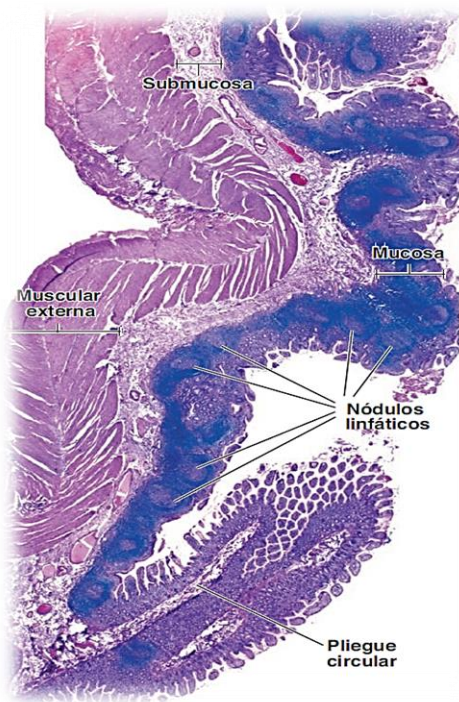
han sido descritas las explicaciones fisiológicas precisas que fundamenten estos resultados.

En relación a la eritropoyesis existen diferentes hipótesis a través de las cuales se podrían explicar los posibles efectos de las microalgas. Se ha observado que ciertos pigmentos presentes en las mismas, como las ficobiliproteínas de la *Spirulina*, pueden mimetizar las funciones de la EPO (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020). En esta línea, ha sido verificado que tras la suplementación con *Spirulina* en ratas aumentan las CFU-E de la médula ósea (Chengwu Zhang, 1994). Por ello, se ha establecido que los progenitores celulares eritropoyéticos poseen receptores para ciertos pigmentos contenidos en las microalgas como las C-ficocianinas de las cianobacterias (Chengwu, 1994; Hu, 1994). Asimismo, se ha especulado sobre la posible existencia de diversos péptidos bioactivos liberados durante la digestión de las microalgas que puedan mimetizar la EPO e incluso inducir su expresión (Toro y cols., 2020).

Otra de las hipótesis que podrían explicar la relación entre las microalgas y la estimulación de la eritropoyesis se fundamenta en el nexo existente entre el sistema inmunitario del TG y los mecanismos hematopoyéticos (Moraleda, 2017). Los lipopolisacáridos y los polisacáridos presentes en la MEC de las microalgas podrían ser detectados por las células inmunitarias albergadas en los cúmulos linfáticos intestinales que constituyen las denominadas placas de Peyer (Peakman y Vergani, 2011).

Las placas de Peyer son una cubierta de tejido linfático que reviste el interior de las paredes del intestino delgado (Hall, 2020). Albergan grandes cantidades de células inmunes capacitadas para reconocer posibles antígenos presentes en los alimentos debido a su naturaleza linfática (Ramírez, 2007). Los lipopolisacáridos y los polisacáridos podrían ser detectados como antígenos, induciéndose toda la maquinaria inmunológica que implicaría la producción y secreción de múltiples tipos de interleucinas al torrente circulatorio sistémico (Riccio y Lauritano, 2019). Estas moléculas al llegar a la médula ósea pueden modificar los mecanismos hematopoyéticos de diferentes linajes celulares, entre ellos los correspondientes con la serie roja (Moore y Knight, 2016).

Figura 12. Fotomicrografía de las placas de Peyer.



Esta fotomicrografía constituye un corte longitudinal de un ileon humano. En esta imagen es destacable la abundancia de nódulos linfáticos ubicados en la mucosa. Estos nódulos linfáticos son pertenecientes a la placa de Peyer. Tomado de Pawlina y Ross, 2016.

La hematopoyesis se encuentra bajo el estricto control de la expansión, la diferenciación y la supervivencia de las células progenitoras (Jiménez, 2017; Shinar y Rachmilewitz, 1990). De este modo, todos los fenómenos de proliferación eritropoyéticas exponen a las células eritroides al más alto nivel de estrés oxidativo, siendo la Hb muy propensa al daño oxidativo debido a su alto contenido en Fe (Zhao y cols., 2016). De acuerdo con esto, se ha demostrado que los altos niveles de estrés oxidativo celular pueden reducir la vida de los hematíes ya sintetizados, así como mermar la actividad enzimática de los procesos eritropoyéticos (Grune y cols., 2000; Marinkovic y cols., 2007a; Zhao y cols., 2016).

No obstante, se ha comprobado en experiencias realizadas con ratones que ante un déficit inducido de selenio que provoca la imposibilidad de sintetizar la glutatión peroxidasa, a pesar de que se incrementen las concentraciones de EPO, se produce una bajada paradójica del hematocrito y del recuento celular de los hematíes (Kaushal y cols., 2011). Esta situación se puede atribuir tanto al aumento descontrolado del estrés oxidativo debido a una disminución de las selenoproteínas como a una desestabilización de la membrana del hematíe que reduce la vida media del mismo (Fibach y Rachmilewitz,

2008; Marinkovic y cols., 2007a). Así, estos hallazgos ponen de manifiesto que el desarrollo de los procesos eritropoyéticos exitosos requiere que los niveles de estrés oxidativo sean rigurosamente controlados.

En relación con lo anterior, se ha demostrado que los hematíes deficientes en Se son más propensos a la hemólisis cuando se someten a pruebas de fragilidad osmótica (Kaushal y cols., 2011). Por lo tanto, el aporte de Se y otros antioxidantes como los carotenoides y los tocoferoles, presentes en las microalgas, puede conducir a una eritropoyesis más eficiente debido tanto a la conservación de las reservas celulares de las selenoproteínas antioxidantes como a la activación de genes de desintoxicación celular (Jacob-Lopes y Queiroz, 2020; Levine y Fleurence, 2018).

En cuanto a la serie plaquetaria, hace dos décadas Villar y cols. (1997) identificaron potentes efectos antiagregantes sobre extractos de plaquetas humanas utilizando la microalga *Dunaliella tertiolecta* (Villar y cols., 1997). Estos autores concluyeron que la citada microalga tenía efectos inhibitorios sobre elementos que son fundamentales para la agregación plaquetaria como la trombina, el ácido araquidónico y la iomicina (Badimon y cols., 2021; Shimizu y cols., 2019). Posteriormente, Koukuraki y cols. (2020) evaluaron las propiedades antitrombóticas de un extracto de *Spirulina platensis* en plaquetas de conejos y observaron que la espirulina poseía una potente actividad inhibitoria de la trombina (Koukouraki y cols., 2020).

En general, los AGPI constituyen otros de los elementos contenidos en las microalgas que más relaciones podrían guardar con la trombopoyesis y la actividad plaquetaria (Adili y cols., 2018). Concretamente, los AGPI n-3 marinos se han asociado a la reducción del recuento plaquetario, a la disminución de la reactividad plaquetaria, a tiempos de sangrados más prolongados y a una proporción más baja de tromboxanos proagregantes con respecto a prostacilinas antiagregantes (Dinicolantonio y Okeefe, 2019; Gao y cols., 2013).

Además, se ha reportado que compuestos como los carotenoides y los polisacáridos, presentes en las microalgas, exhiben propiedades antiplaquetarias (Chagas y cols., 2020; Fuentes y cols., 2021).

1.5.2.2. Efectos de las microalgas sobre el sistema inmune.

El sistema inmune: bases fisiológicas

El ser humano se encuentra continuamente expuesto a microorganismos que se inhalan, se ingieren o habitan en la piel y en las membranas mucosas. Los microorganismos según su patogenicidad y la integridad de los mecanismos de defensa del huésped pueden penetrar en el medio interno y originar diversas patologías (Parkin y Cohen, 2001).

El sistema inmune constituye una red interactiva de órganos linfoides y de células que se encuentran en una estrecha comunicación a través de los factores humorales y de las citocinas (Peakman y Vergani, 2011). Por ello, la función elemental del sistema inmune consiste en defender al huésped de cualquier sustancia o microorganismo que pueda alterar su homeostasis (Ramírez, 2007). En este trabajo, con la finalidad de contextualizar los efectos de las microalgas sobre la inmunidad humana únicamente se aporta una visión general de este sistema, debido a la complejidad y a la infinidad de autores y manuales que abordan el sistema inmune.

La inmunidad se ha clasificado generalmente en estos dos grandes apartados determinados por la velocidad y la especificidad de la reacción: la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa, aunque realmente ambas inmunidades se encuentran íntimamente vinculadas, existiendo una gran interacción entre ellas (Medina, 2016).

Inmunidad innata.

El término inmunidad innata hace referencia tanto a las barreras físicas, químicas y microbiológicas del organismo humano como a distintos elementos celulares y moleculares entre los que se incluyen los neutrófilos, las células asesinas naturales (NK), los monocitos, los basófilos, los macrófagos, los mastocitos, el sistema del complemento, las proteínas de fase aguda y las citocinas. La respuesta inmune innata mantiene una naturaleza altamente conservada observándose incluso en los seres vivos más simples (Chaplin, 2010; Ramírez, 2007).

En la inmunidad innata los macrófagos y los neutrófilos son las células encargadas de la eliminación de los agentes biológicos mediante la fagocitosis. Los macrófagos provienen de los monocitos, estos últimos circulan por el torrente sanguíneo y se extravasan a los tejidos que los requieren, transformándose en macrófagos. Tanto los neutrófilos como los macrófagos reconocen a los agentes patógenos a través de la

detección de los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Los PAMPs constituyen un grupo de diversas sustancias (polisacáridos, lipopolisacáridos, peptidoglucanos, manosa, ácido lipoteicoico, etc.) que se exponen en las matrices extracelulares de los patógenos y pueden llegar a ser reconocibles mediante los receptores *toll-like receptor* (TLRs) expresados en la superficie celular de los macrófagos y los neutrófilos (Krieg, 2006a; Peakman y Vergani, 2011).

A través del reconocimiento de los PAMPs, estas células fagocitan los microorganismos en su interior emitiendo pseudópodos que forman una vesícula denominada fagosoma. Posteriormente, el fagosoma se fusiona con diversos gránulos citoplasmáticos formando el fagolisosoma, donde se lleva a cabo la destrucción del agente patógeno (Malech y cols., 2020).

Además, los macrófagos y los neutrófilos también pueden detectar patógenos o antígenos que hayan sido opsonizados previamente mediante la unión de inmunoglobulinas, gracias a la expresión del receptor para inmunoglobulinas (FcR) en su membrana celular (Parkin y Cohen, 2001; Peakman y Vergani, 2011).

Los eosinófilos poseen la función principal de proteger al huésped frente a infecciones parasitarias. Estos no poseen funciones fagocíticas, pero albergan gránulos intracelulares que contienen sustancias altamente citotóxicas cuando se liberan en la superficie de los microorganismos. Además, reconocen al patógeno a través de receptores de alta afinidad para la inmunoglobulina E (Fc-IgE) (Peakman y Vergani, 2011).

Los basófilos y los mastocitos son cuantitativamente menores en comparación con otras células inmunitarias y se involucran en las reacciones de anafilaxia, de hipersensibilidad tipo I y en el angioedema. Los basófilos se encuentran circulando por el torrente sanguíneo. Sin embargo, los mastocitos se ubican en los tejidos. Estas células no fagocitan, pero poseen gránulos que contienen mediadores celulares, entre los que destacan: las aminas vasoactivas, la histamina, la serotonina y los leucotrienos. Al igual que los eosinófilos, los basófilos y los mastocitos reconocen al antígeno mediante Fc-IgE (Marone, 2000).

Las células NK poseen la morfología de los linfocitos, pero no tienen un receptor de antígenos específico. Por ello, también se incluyen en la inmunidad innata. Estas células destruyen a los agentes patógenos mediante las perforinas y las grazimas que desestabilizan la membrana celular del microorganismo induciendo su apoptosis.

Además, las células NK reconocen al agente patógeno por los FcR (Gardiner, 2008; Ramírez, 2007).

Por otra parte, el sistema del complemento posee varias funciones importantes en la inmunidad innata pues en este se incluyen una gran variedad de glicoproteínas séricas con altos índices de actividad biológica. La activación de una sola de las anteriores moléculas induce la generación de una cascada bioquímica con diversas etapas de amplificación, que origina miles de sustancias bioactivas. Dichas moléculas poseen funciones inmunológicas esenciales. Entre ellas destacan: la lisis de los microorganismos que desestabiliza sus membranas celulares y la opsonización o el marcaje de los agentes patógenos para que puedan ser detectados y eliminados por otras células inmunes (Sarma y Ward, 2011).

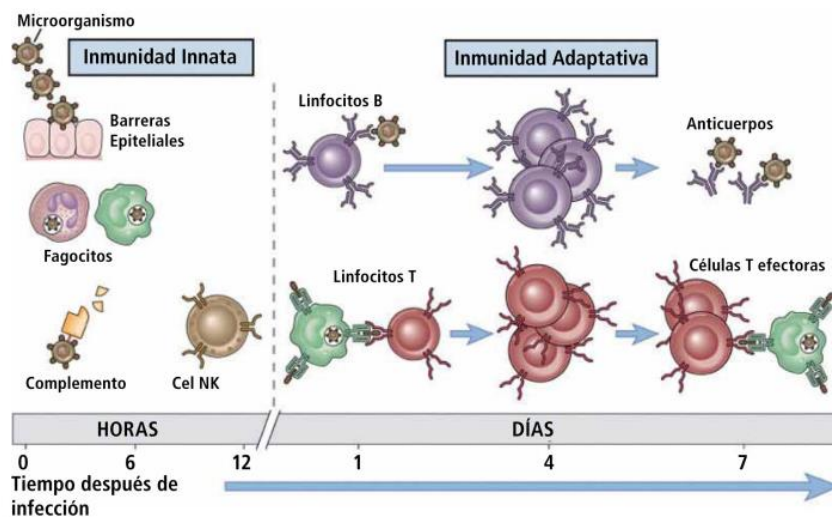
Las células dendríticas (CDS) pertenecen al grupo de células presentadoras de antígenos junto con los macrófagos y los linfocitos B (incluidos en la respuesta adaptativa). Las CDS constituyen uno de los elementos más importantes para llevar a cabo la interacción entre el sistema inmune innato y el adaptativo. En este aspecto, las CDS fagocitan al patógeno, procesándolo y exponiendo ciertas secuencias peptídicas del agente microbiano en su superficie celular gracias a las moléculas pertenecientes al sistema del antígeno leucocitario humano (HLA). De este modo, las CDS presentan las secuencias peptídicas de los patógenos captados a los linfocitos T que las reconocen mediante sus receptores específicos y actúan contra ese patógeno. Así, estas secuencias peptídicas son utilizadas como mecanismos de identificación del patógeno pues se replican de manera idéntica entre los diferentes agentes microbianos (Moraleda, 2017; Peakman y Vergani, 2011).

Todas estas interacciones que permiten a la respuesta innata erradicar los agentes infecciosos requieren el reconocimiento y la exposición de la superficie celular del microorganismo. Por lo tanto, esta respuesta se limita en gran medida a la eliminación de los organismos extracelulares, en su mayoría bacterias. Consecuentemente, la respuesta innata no tiene la capacidad de detectar microorganismos intracelulares como las micobacterias. Además, la respuesta innata es bastante inespecífica y con frecuencia mal dirigida, por lo que puede llegar a provocar grandes daños tisulares (Parkin y Cohen, 2001).

Inmunidad adaptativa.

Como anteriormente se ha mencionado, la inmunidad innata no es capaz de detectar ciertos microorganismos. Además, cabe destacar que los microorganismos se adaptan continuamente y evolucionan para sobrevivir al medio adverso. Los patógenos son capaces de ocultar sus PAMPs y también modifican sus secuencias peptídicas con el objetivo de ser indetectables por la respuesta innata y sobrevivir. Ante esta problemática, entra en juego la inmunidad adaptativa, cuya principal diferencia con respecto a la innata radica en que sus células poseen receptores de reconocimiento específicos (Deets y Vance, 2021).

Figura 13. Representación esquemática de los principales componentes de la respuesta inmune.



Representación esquemática de los principales componentes de la respuesta inmune donde se puede apreciar los diferentes tipos celulares en función de la respuesta inmune a la que pertenecen, así como los tiempos en los que actúan. Tomado de Toche, 2012.

En este sentido, los receptores de la inmunidad adaptativa no solo reconocen los PAMPs sino que también detectan secuencias peptídicas que oscilan entre 8 y 20 aminoácidos denominadas epítopos y expresadas en la superficie de los microorganismos. Todas las proteínas tienen en su estructura varios epítopos. Igualmente, los lípidos y polisacáridos también poseen epítopos pero solo tienen 1 epítipo por molécula (Peakman y Vergani, 2011; Ramírez, 2007).

Los receptores específicos de la respuesta adaptativa están capacitados para detectar todo tipo de agentes patógenos, así como cualquier mutación o modificación de los mismos como consecuencia de sus mecanismos de supervivencia. Además, una de las

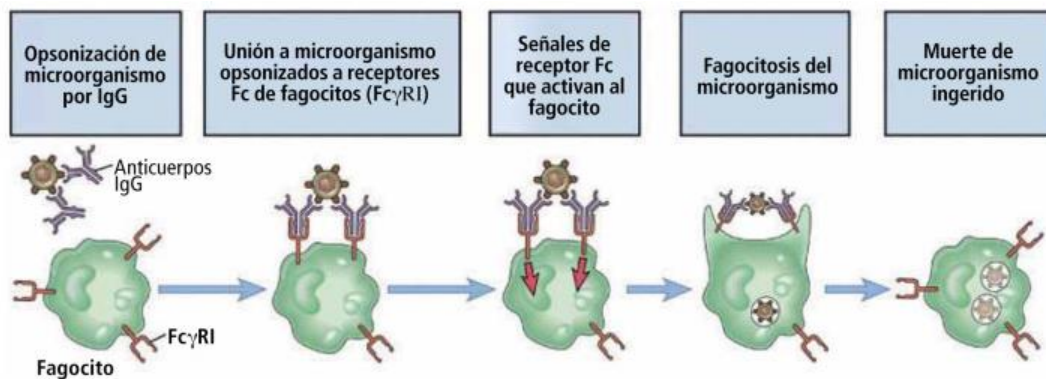
características más peculiares de la respuesta adaptativa es que genera memoria inmunológica a través de las inmunoglobulinas evitándose la alteración de la homeostasis del huésped en caso de que volviera a ocurrir una infección por el mismo patógeno (Deets y Vance, 2021; Eter y cols., 2000).

Las células que representan el sistema inmune adaptativo son los linfocitos B y los linfocitos T, que expresan los receptores BCR y TCR respectivamente (Toche, 2012; Parkin y Cohen, 2001).

Los linfocitos B se diferencian y maduran en la médula ósea mientras que los linfocitos T a través de un complejo proceso finalizan su diferenciación y selección en el timo. Cuando los linfocitos emergen del timo y de la médula ósea, aún no han entrado en contacto con el agente patógeno específico. Este contacto se produce a través de los tejidos linfoides secundarios ubicados en los ganglios linfáticos, las amígdalas, las mucosas y el bazo. De este modo, los tejidos linfoides proporcionan el microambiente necesario para que los linfocitos puedan identificar al antígeno y comunicarse con los demás tejidos mediante los vasos linfáticos y sanguíneos (Hall, 2020; Eter y cols., 2000; Parkin y Cohen, 2001; Ramírez, 2007).

Una vez que los linfocitos reconocen al antígeno en los tejidos linfoides se producen una serie de cambios conformacionales que transforman a los linfocitos B en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas con capacidad de opsonizar a los patógenos para poder ser reconocidos y destruidos por las células inmunes que poseen receptores FcR. Además, los linfocitos T también ejercen sus funciones a través de otros mecanismos celulares con el fin de erradicar el patógeno (Chaplin, 2010; Toche, 2012).

Figura 14. Representación gráfica del proceso de opsonización y fagocitosis de los agentes patógenos.



Representación gráfica en la que se resume el proceso de opsonización donde los agentes patógenos quedan marcados para poder ser reconocidos por los receptores específicos de los fagocitos y puedan ser eliminados. Tomado de Toche., 2012.

El proceso inflamatorio: integración de las respuestas inmunológicas.

Este apartado aborda desde una perspectiva general la integración de la respuesta innata y la respuesta adaptativa durante el proceso inflamatorio. Considerando que un agente patógeno de naturaleza incierta ha penetrado en el intersticio de un tejido, la integración inmunológica se podría explicar resumidamente de la siguiente manera:

El agente patógeno presenta PAMPs en su MEC y es reconocido por los receptores de tipo TLRs de los macrófagos y otros fagocitos residentes en el intersticio. Estas células fagocitan el patógeno para eliminarlo y paralelamente liberan una gran cantidad de citocinas pro-inflamatorias y quimiocinas (Chaplin, 2010). Dichas sustancias provocan varios efectos, entre los que destacan los siguientes (Hoffbrand y Steensma, 2020; Peakman y Vergani, 2011):

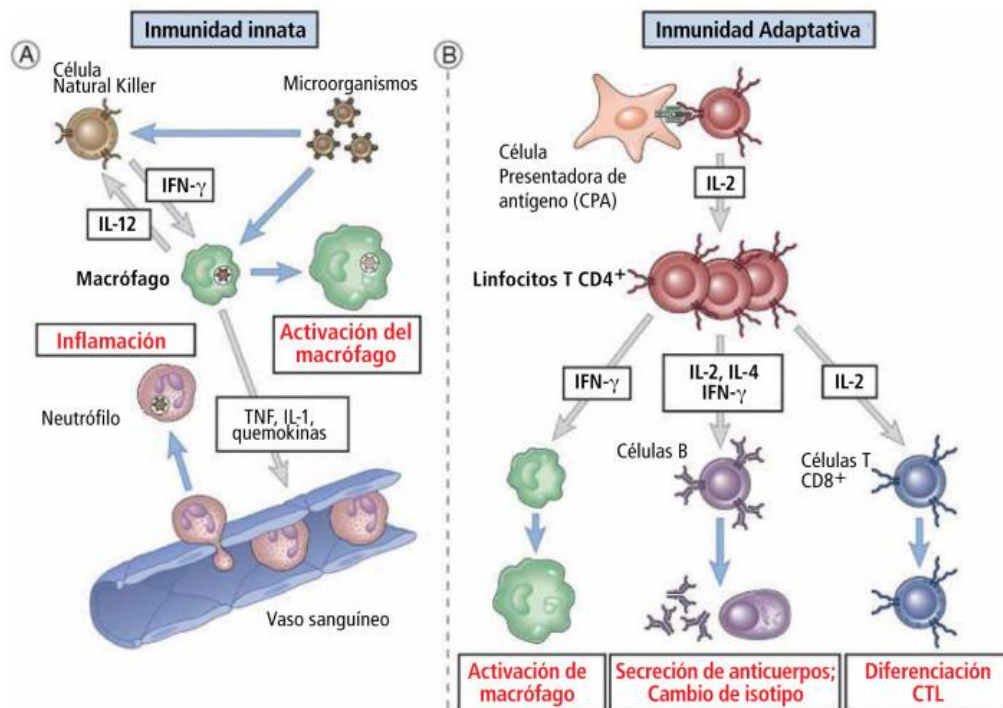
- Aumentan la permeabilidad de los vasos sanguíneos de la microcirculación local mediante el incremento de la expresión de moléculas de adhesión celular del endotelio. Esta situación permite que las células inmunes sanguíneas circulantes puedan extravasarse con precisión hacia el foco del tejido infectado.
- Alcanzan a la médula ósea y estimulan la diferenciación y la maduración de las células hematopoyéticas. Como consecuencia, se incrementan las concentraciones sanguíneas de las células inmunes y aumentan las posibilidades de eliminar el agente patógeno.

Simultáneamente a los anteriores procesos, las células dendríticas intersticiales del foco infectado internalizan el agente patógeno para procesarlo y presentarlo en su superficie celular mediante las moléculas HLA a los linfocitos T del ganglio linfático más cercano (presentación antigénica), estimulando su crecimiento y maduración hacia una estirpe u otra en función del patrón de citocinas secretado. También, todo esto depende de la naturaleza biológica del microorganismo invasor (Parkin y Cohen, 2001; Peakman y Vergani, 2011). Además, cabe resaltar aquí que esta función también pueden realizarla los linfocitos B y los macrófagos pues poseen el tipo de HLA que se requiere para tal fin (Ramírez, 2007).

Por otra parte, al reconocerse el agente patógeno por los BCR de los linfocitos B se produce la maduración de los mismos en el ganglio linfático, transformándose en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas. Posteriormente, las inmunoglobulinas se unen al antígeno o patógeno y los opsonizan. Una vez que el agente patógeno se encuentra impregnado de inmunoglobulinas es reconocido y eliminado por la colaboración tanto de las células innatas, que poseen receptores para detectar a estas inmunoglobulinas, como de los linfocitos T que han reconocido al patógeno gracias a la presentación antigénica de los linfocitos B, de las células dendríticas y de los macrófagos. En definitiva, existen patógenos que no pueden ser eliminados ni identificados por el sistema innato sin la colaboración de las inmunoglobulinas secretadas por el sistema adaptativo (Chaplin, 2010; Medzhitov y Janeway, 1997)

Una vez que se elimina el agente patógeno o el antígeno, debe desaparecer la respuesta inmune. Cuando cesa el estímulo patogénico, las propias células inmunes liberan un patrón de interleucinas que inhibe la inflamación. Esta situación conlleva el paso de un estado proinflamatorio a un estado antiinflamatorio que implica la atenuación de la respuesta inmune (Peakman y Vergani, 2011).

El organismo humano se encuentra en un permanente equilibrio entre estos dos estados (proinflamatorio y antiinflamatorio). Como consecuencia, constantemente existe la secreción tanto de citocinas proinflamatorias como de citocinas antiinflamatorias, aunque según las situación y las necesidades fisiológicas puede predominar un estado más que otro (Hoffbrand y Steensma, 2020; Malutan y cols., 2014). En las fases proinflamatorias destacan las citocinas: IL-1, TNF α , INF γ , IL-17 e IL-4 y en las fases antiinflamatorias, las más reseñables son: la IL-10, el TGF β , la IL-35, la IL-18 y la IL-33 (Malutan y cols., 2014; Opal y DePalo, 2000; Ramírez, 2007).

Figura 15. Representación esquemática del proceso inmune integrado.

Representación esquemática en la que se aprecia de forma resumida los diferentes componentes y procesos que se producen durante las respuestas inmunes así como el acoplamiento que existe entre los dos tipos de inmunidad. Tomado de Toche, 2012.

La microbiota.

El concepto de “microbiota” hace referencia a la población de microorganismos que residen en la piel y las mucosas de las personas sanas (Aziz y cols., 2013). Ha sido ampliamente demostrado que la microbiota constituye la primera barrera de defensa contra los agentes patógenos, contribuye a los procesos digestivos, ayuda en la eliminación de toxinas y colabora en los procesos de maduración del sistema inmune (Aho y cols., 2021; Wu y cols., 2021). Dadas sus particulares características, es considerada por muchos autores como parte del sistema inmune innato. Por lo tanto, algunos cambios drásticos en la microbiota normal se han asociado con enfermedades como la patología inflamatoria intestinal y la diabetes (Glassner y cols., 2020; Zhang y cols., 2021). Como consecuencia de su relevancia fisiológica, el microbioma humano se define como un órgano con potentes efectos sobre la salud de los individuos (Shahar y cols., 2020).

La piel y las mucosas contienen una amplia diversidad de microorganismos clasificados en estos dos grandes grupos: la flora residente y la flora transitoria. En primer

lugar, la flora residente está constituida por especies de microorganismos que permanecen a lo largo de la vida en compartimentos histológicos concretos y posee la capacidad de regenerarse rápidamente ante diversos cambios (Gould, 2012). En segundo lugar, la flora transitoria está compuesta por microorganismos que residen en la piel o las mucosas durante un periodo muy limitado de tiempo (días, horas o semanas) y tiene el potencial de generar patologías (Li y Convertino, 2019). Siempre que la flora residente se encuentre inalterada, la flora transitoria no posee la capacidad de proliferar. Sin embargo, ante variaciones de la flora residente, las especies de la flora transitoria pueden colonizar los tejidos y provocar enfermedades (Weiss y Hennet, 2017).

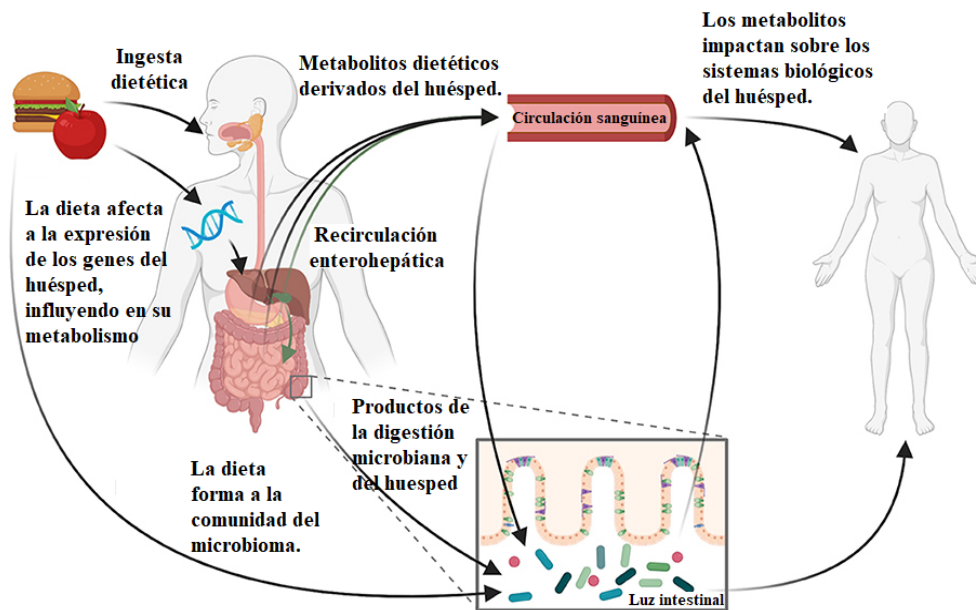
La mayor parte de la biomasa del microbioma humano se asienta en el tracto digestivo, concretamente en sus zonas distales. El intestino humano constituye un hábitat complejo con muchas variables que pueden afectar a la distribución, función y composición de la flora intestinal (Hannelore, 2020). Ha sido generalmente aceptado que el microbioma intestinal suma en su conjunto entre 1,5 y 2 kg de biomasa (Hannelore, 2020). A lo largo del tubo digestivo la distribución de las especies de microorganismos no es constante. En el adulto sano, la flora residente se halla directamente relacionada con la alcalinidad del pH (Murray y cols., 2017). La cantidad de microorganismos aumenta de forma gradual desde el duodeno hasta el colon (Murray y cols., 2017). En la porción proximal del intestino predominan los enterococos y los lactobacilos y en la porción distal habitan las especies anaerobias como bacteroides, fusobacterium, lactobacilos anaerobios, clostridios y cocos anaerobios gram-positivos (Jandhyala y cols., 2015).

Cabe destacar que existen grandes diferencias entre individuos con respecto a la cantidad y tipos de microorganismos que residen en sus tejidos (Dahl y cols., 2020). En esta línea, se ha evidenciado que tanto el nivel de actividad física como el tipo de dieta pueden estar relacionados con modificaciones de la flora intestinal (Codella y cols., 2018). Además, se ha postulado que estas diferencias podrían correlacionarse con la obesidad pues influyen sobre determinadas vías metabólicas durante los procesos digestivos (Aron-Wisnewsky y cols., 2021). Por otra parte, se ha establecido la existencia del eje cerebro-intestino-microbioma produciéndose interacciones bidireccionales entre estos compartimentos (Margolis y cols., 2021).

Se ha observado que los microorganismos intestinales poseen rutas de comunicación con el sistema nervioso central a través de diferentes vías paralelas en las que intervienen mecanismos neuro-endocrinos e inmunológicos (Martin y cols., 2018). En los últimos

años se han asociado diversos cambios de la flora intestinal con enfermedades neurodegenerativas, mentales, intestinales, autoinmunes y endocrinas (Jiang y cols., 2017; Khanna y Raffals, 2017; Zaiss y cols., 2021).

Figura 16. Representación gráfica de los posibles efectos de la dieta sobre el microbioma intestinal.



Representación gráfica de los posibles efectos de la dieta sobre el microbioma intestinal y su repercusión a nivel sistémico. La ingesta dietética puede condicionar la expresión de diferentes genes con funciones importantes en la regulación del metabolismo y afectar a la composición de la flora intestinal. Esto propicia distintos efectos en los sistemas biológicos del huésped.

Tomado de Johnson y cols, 2020.

En el intestino, los PAMPs de la microflora son reconocidos por los receptores TLRs presentes en las células inmunes del tejido linfático asociado a las mucosas. Así, en condiciones normales, existe una estimulación continua de las células inmunes albergadas en las mucosas intestinales. Esto desencadena un estado de inflamación fisiológica de bajo grado por lo que parece lógico pensar que la homeostasis del TG requiere un equilibrio continuo entre los factores proinflamatorios y antiinflamatorios, lo que implica que cualquier alteración en la microbiota intestinal es detectada por el sistema inmune, influyendo directamente en su actividad.

La intensa investigación en este campo promete resultados esperanzadores que podrían permitir identificar nuevos objetivos terapéuticos y evaluar diferentes sistemas de tratamiento para un amplio abanico de enfermedades.

Efectos de las microalgas sobre el sistema inmune: bases farmacodinámicas.

En las dos últimas décadas se ha demostrado que varios compuestos de las microalgas estimulan el sistema inmune en modelos humanos y murinos a través de diferentes mecanismos de acción.

La inmunomodulación es un concepto que hace referencia a todos los procesos que modifican o regulan la respuesta inmune con fines terapéuticos (Huang y cols., 2019). De acuerdo con esta definición, se ha observado que las microalgas poseen propiedades inmunomoduladoras. Según la especie y la composición bioquímica de las microalgas los efectos sobre el sistema inmune pueden variar. En este aspecto, las microalgas pueden ejercer tanto efectos antiinflamatorios como estimuladores del sistema inmune (Hsu y cols., 2010; Riccio y Lauritano, 2019).

Existen distintos compuestos bioquímicos presentes en las microalgas que se han asociado con su posible actividad inmunomoduladora. Las sustancias que más evidencias han aportado hasta la fecha son los polisacáridos sulfatados, los sulfolípidos, los AGPI y ciertos pigmentos (Jacob-Lopes y cols., 2019).

Como ya se ha detallado a lo largo de este trabajo, los polisacáridos son componentes muy abundantes en la MEC de las microalgas. Desde una perspectiva inmunológica, cuando se ingiere una microalga realmente se está digiriendo un microorganismo que ha penetrado en el sistema digestivo. Según esta explicación, los polisacáridos y los lipopolisacáridos representan componentes esenciales de las paredes celulares de muchas bacterias y agentes patógenos y constituyen PAMPs. Por lo tanto, cuando ya se ha digerido la MEC de las microalgas una parte de los polisacáridos que se liberan al TG pasan a las placas de Peyer donde son detectados por las células inmunes a través de sus receptores TLRs (Peakman y Vergani, 2011; E. Ramírez, 2007). Se ha observado que las células que más se activan tras el reconocimiento de los polisacáridos son los macrófagos, que incrementan las concentraciones de IL-6, IL-1, TNF α , y óxido nítrico (ON) (Raja y Hemaiswarya, 2010). Esta situación podría aumentar la funcionalidad del sistema inmune y los niveles de actividad hematopoyética de la serie blanca, especialmente la de los

linfocitos pues sus precursores hematopoyéticos son muy sensibles a la IL-6 (Moraleda, 2017; Ramírez, 2007).

Los sulfolípidos son constituyentes de los tilacoides cloroplásticos presentes en las microalgas (Frentzen, 2004). Se ha reportado que los sulfolípidos pueden estimular el sistema inmune y son considerados por algunos autores como moléculas coadyuvantes de vacunas (Manzo y cols., 2017). En esta línea, se ha observado que los sulfolípidos pueden inducir aumentos de la IL-1, IL-18 e IL-27, así como desencadenar una activación de las células dendríticas más eficaz favoreciendo la expansión de los linfocitos T (Manzo y cols., 2017; Riccio y Lauritano, 2019).

Por otra parte, diferentes autores han destacado las propiedades inmunoestimuladoras de los AGPI. De este modo, se ha verificado que los EPA inducen la proliferación de los macrófagos, la liberación de ON y la secreción de citocinas como las: IL-1, IL-6, TNF α e IFN- γ (Han y cols., 2017). Además, el DHA ha sido asociado más específicamente a la modulación de la actividad de las células dendríticas, optimizando su actividad a través de un aumento de la expresión del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR- γ), esencial para el desempeño de las funciones de las células dendríticas (Han y cols., 2017; Riccio y Lauritano, 2019).

En relación a los pigmentos, los más asociados con la función inmune son las astaxantinas y las ficocianinas. Con respecto a las astaxantinas, existen evidencias de que se producen mejoras en la respuesta inmune tras el consumo de dichas sustancias. En consonancia con lo anterior, se ha observado en humanos que las astaxantinas aumentan las subpoblaciones de células T y B y producen un incremento de la actividad citotóxica de las células NK (Park y cols., 2010). Esto concuerda con lo observado en modelos *in vitro* donde las astaxantinas aumentan la proliferación de linfocitos e incrementan los niveles de IL-2 e IFN- γ (Lin y cols., 2015).

Las ficocianinas constituyen uno de los pigmentos más llamativos presentes exclusivamente en las cianobacterias. Se ha observado que las ficocianinas muestran bioactividad aumentando el rendimiento de los macrófagos e induciendo la expresión del TNF α , la IL-1 y la IL-6 (Raja y Hemaiswarya, 2010). Contrariamente, otros estudios han informado del potencial antiinflamatorio de las ficocianinas afirmando que disminuyen los niveles de las citocinas anteriormente mencionadas (Alfaro-Alfaro y cols., 2020). Por

lo tanto, es necesario realizar más investigaciones para dilucidar el efecto inmunológico predominante de las ficocianinas.

Al igual que los hematíes, las células inmunes son particularmente sensibles al estrés oxidativo y al daño de la membrana producido por los radicales libres pues dependen en gran medida de las comunicaciones con el resto de células a través de sus receptores de la membrana celular (Chaplin, 2010). Además, la acción fagocítica de algunas de estas células supone la secreción de radicales libres que pueden dañar significativamente las membranas plasmáticas de las propias células inmunes si no son neutralizados por los sistemas antioxidantes (Peakman y Vergani, 2011; Ramírez, 2007). De acuerdo con esta idea, los carotenoides, los tocoferoles y otros elementos con gran poder antioxidante, contenidos en las microalgas podrían combatir los niveles de peroxidación lipídica de las células inmunes, favoreciendo tanto su vida media útil como las funciones que desempeñan (Cunha y Pintado, 2022; Hussein y cols., 2006; Sharp y cols., 2021a).

Todos estos posibles mecanismos de acción explicarían los resultados de muchos estudios en microalgas como la *Spirulina Platensis*, *Haematococcus pluvialis* y la *Chlorella vulgaris* en los que se han obtenido aumentos significativos de los recuentos celulares de la serie blanca, así como una optimización de la función inmunológica (Hasegawa y cols., 1999; Riccio y Lauritano, 2019; Simpure y cols., 2007).

Finalmente, en la literatura científica se ha informado del posible efecto prebiótico de las microalgas. Los prebióticos son ingredientes fermentados selectivamente que permiten cambios específicos tanto de la composición como de la actividad de la microflora gastrointestinal. En numerosas observaciones se ha reportado que los prebióticos pueden estimular selectivamente el crecimiento de las bacterias intestinales beneficiosas (Gibson y cols., 2004; Scaldaferrri y cols., 2013; Scott y cols., 2010).

Los polisacáridos presentes en las microalgas poseen un potencial efecto prebiótico pues generalmente no son digeridos por las enzimas del TG superior. De este modo, llegan al colon donde son fermentados por la microflora específica ubicada en esta zona (Patel y cols., 2021). Durante este proceso se producen varios metabolitos, como los ácidos orgánicos (lactato, piruvato y succinato) y los ácidos grasos de cadena corta, así como diferentes gases (Hall, 2020). Estos metabolitos permiten el crecimiento de ciertas cepas bacterianas positivas, como por ejemplo las fermentadoras de lactato, desplazando así a otras cepas cuyo sobrecrecimiento puede llegar a ser patológico (Patel y cols., 2021).

Además, se han establecido posibles mecanismos de los prebióticos que podrían mejorar el sistema inmunitario del huésped debido a la estrecha interrelación entre el sistema inmune y la microbiota intestinal. La hipótesis más aceptada vincula el posible crecimiento bacteriano positivo inducido por los prebióticos con la mayor detección por parte de las células inmunes de estas bacterias a través de sus receptores TLRs de tipo 9 (Hotte y cols., 2012). Esta situación promovería una inmunoestimulación que concuerda con los resultados de algunos estudios que han registrado incrementos en la producción de $\text{TNF}\alpha$, así como aumentos de la expresión de los receptores linfocíticos y macrofágicos tras la suplementación con prebióticos (Gibson y cols., 2004; Scott y cols., 2010).

Como consecuencia, otras de las posibles vías inmunomoduladoras de las microalgas podrían ser explicadas a través de sus posibles efectos prebióticos.

1.5.2.3. Efectos de las microalgas sobre los parámetros bioquímicos: bases fisiológicas y farmacodinámicas.

Transporte lipídico y las lipoproteínas plasmáticas: bases fisiológicas.

Las lipoproteínas plasmáticas son complejos solubles compuestos por lípidos y proteínas especializadas (apoproteínas). Constituyen macromoléculas que internalizan los lípidos insolubles en el plasma y que los transportan desde el intestino o el hígado hacia los tejidos periféricos que los requieran o viceversa (Lehninger y cols., 2000).

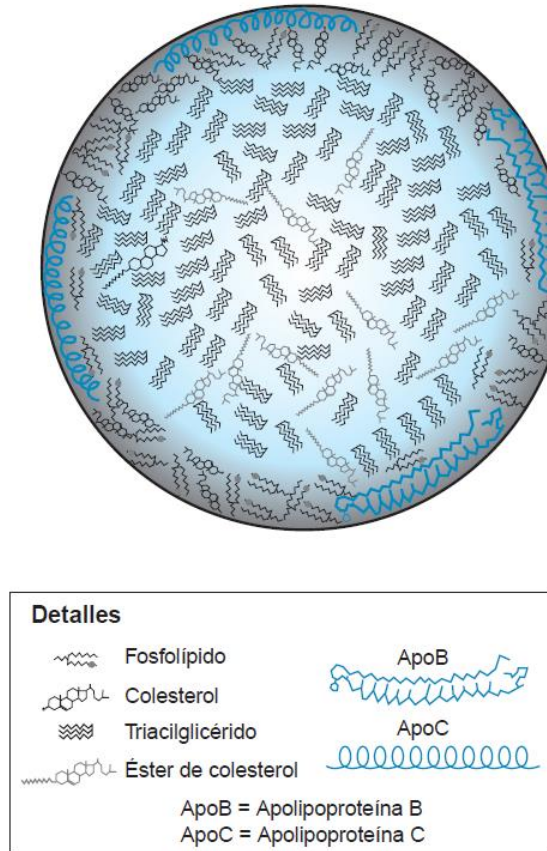
La estructura lipoproteica consiste en un núcleo central apolar constituido por el componente lipídico transportado y una capa externa polar formada por las apoproteínas y la parte polar del colesterol y de los fosfolípidos. De este modo, las lipoproteínas se diferencian entre ellas tanto por el componente lipídico como por la clase de apoproteínas que contengan en su capa externa polar (Lehninger y cols., 2000; Fielding y Fielding, 2002).

Las apoproteínas permiten la estabilización de la estructura lipoproteica y desempeñan un rol esencial en el metabolismo lipoproteico pues son reconocidas por enzimas o receptores ubicados en los tejidos diana para la internalización de los lípidos. Consecuentemente, las apoproteínas guían el metabolismo y el destino final de las lipoproteínas (Kwiterovich, 2000).

Algunas apoproteínas constituyen componentes fijos de la estructura lipoproteica, tales como la B-100 o la B-48. Sin embargo, otras apoproteínas permanecen unidas más

débilmente a las lipoproteínas pudiendo ser intercambiadas durante el transcurso del metabolismo lipoproteico (Lehninger y cols., 2000).

Figura 17. Representación gráfica de la estructura básica de una lipoproteína.



Representación gráfica de la estructura básica de una lipoproteína en la que se pueden observar todos los componentes que transporta. Entre ellos, destacan los fosfolípidos, el colesterol, los triglicéridos y algunas apoproteínas, como la apoB y la apoC. Tomado de de Lozano y cols, 2005

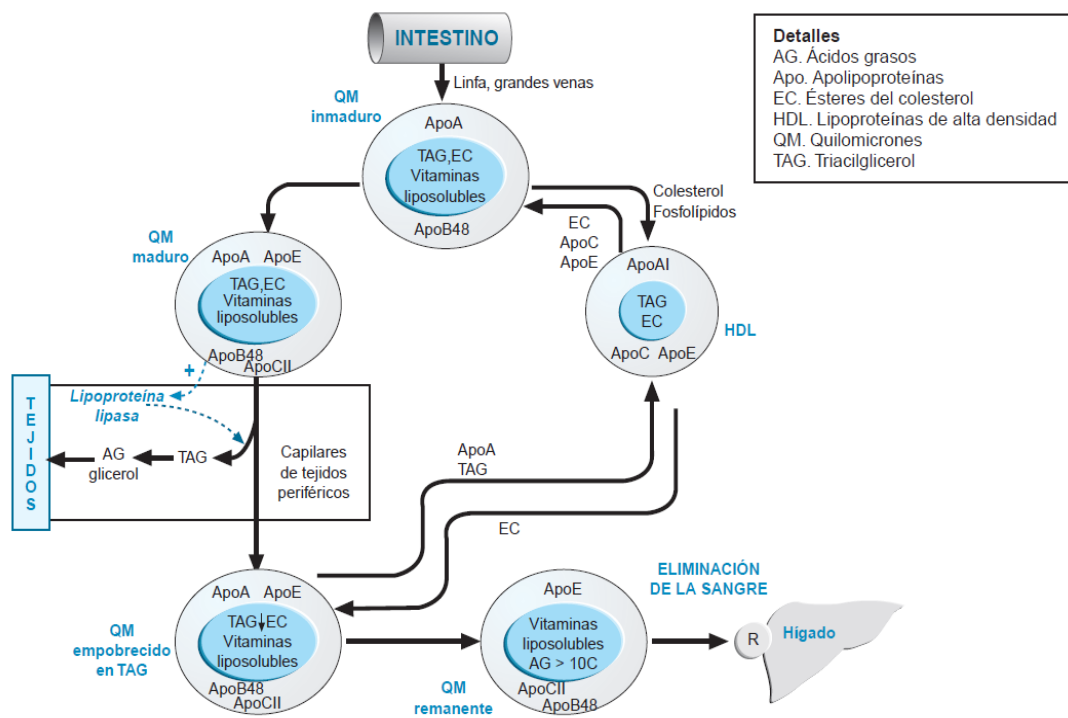
Transporte de los lípidos dietéticos (exógenos).

La grasa dietética es secretada por las células intestinales a través de los quilomicrones, cuya apoproteína estructural es la B-48. Prácticamente, la totalidad de la composición lipídica de los quilomicrones la constituyen los triglicéridos (Hall, 2020)

El quilomicron formado inicialmente es inmaduro y se exporta hacia la linfa para pasar posteriormente al torrente sanguíneo a través del conducto torácico. Una vez que el quilomicron ha alcanzado la sangre, adopta otras dos apoproteínas, la apoCII y la apoE, procedentes de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) circulantes (Lehninger y cols., 2000; Kwiterovich, 2000).

Gracias a la apoCII, los quilomicrones son reconocidos por la enzima lipoproteína lipasa (LPL) que se encuentra adherida a la superficie endotelial gracias a una cadena de proteoglucanos. Su función es hidrolizar los triglicéridos albergados en el núcleo polar del quilomicrón, formando ácidos grasos y glicerol. Estos son internalizados en los diferentes tejidos en función de las necesidades fisiológicas de los mismos (Hall, 2020; Goldberg y cols., 1990; Merkel y cols., 2002).

Figura 18. Representación esquemática del metabolismo de los quilomicrones.



Representación esquemática en la que se resume los procesos del transporte llevados a cabo por los quilomicrones. Tomado de Lozano y cols., 2005.

En los tejidos periféricos existen distintas isoformas de la LPL que pueden ser reguladas por diferentes estímulos. La LPL presente en los capilares del tejido adiposo es regulada positivamente por la insulina con el objetivo de hidrolizar los ácidos grasos y el glicerol e introducirlos en el adipocito. Tras ser internalizados, se vuelven a reesterificar para almacenarlos como reserva energética en forma de triglicéridos (Lehninger y cols., 2000). Por otra parte, la LPL del músculo esquelético se regula en función de las necesidades energéticas del mismo hidrolizando los triglicéridos con la finalidad de obtener energía de los ácidos grasos (Lehninger y cols., 2000; Merkel y cols., 2002).

Durante estos procesos, el quilomicrón va perdiendo tamaño pues se desprende de su almacén de triglicéridos. Cuando se han exportado la mayoría de los triglicéridos de su composición, el quilomicrón vuelve a transferir la apo-CII a las HDL circulantes, transformándose en un quilomicrón residual marcado por la apo-E. Esta última apoproteína es reconocida por los receptores ubicados en la superficie de los hepatocitos. Gracias a este reconocimiento, el quilomicrón residual se endocita y es digerido por las enzimas lisosomales del citoplasma de las células hepáticas (Feingold y Grunfeld, 2015; Redgrave, 2004).

Transporte de los lípidos endógenos.

El transporte de los lípidos endógenos hace referencia a la distribución de los compuestos lipídicos sintetizados por el organismo humano. Dicho transporte comienza en el hígado con la formación de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Posteriormente, durante su metabolismo, a medida que va liberando el componente lipídico se transforma en otras lipoproteínas con diferentes densidades (Fielding y Fielding, 2002; Kwiterovich, 2000).

Las VLDL se sintetizan a partir de los triglicéridos generados por el hígado. Su principal apoproteína es la B-100. Tras liberarse del hígado y pasar a la circulación sistémica por un proceso de exocitosis, adquieren las apoproteínas C y E procedentes de las HDL circulantes. Tras obtener las apoproteínas correspondientes, las VLDL se transforman en VLDL maduras capacitadas para realizar su función de transporte (Lehninger y cols., 2000; Hall, 2020).

Como ocurría en el caso de los quilomicrones, los triglicéridos pueden ser hidrolizados por las diferentes LPL estimuladas por la apo-CII. Cuando ya se ha liberado la mayoría de los triglicéridos, la apo-CII se vuelve a transferir a las HDL circulantes (Lehninger y cols., 2000).

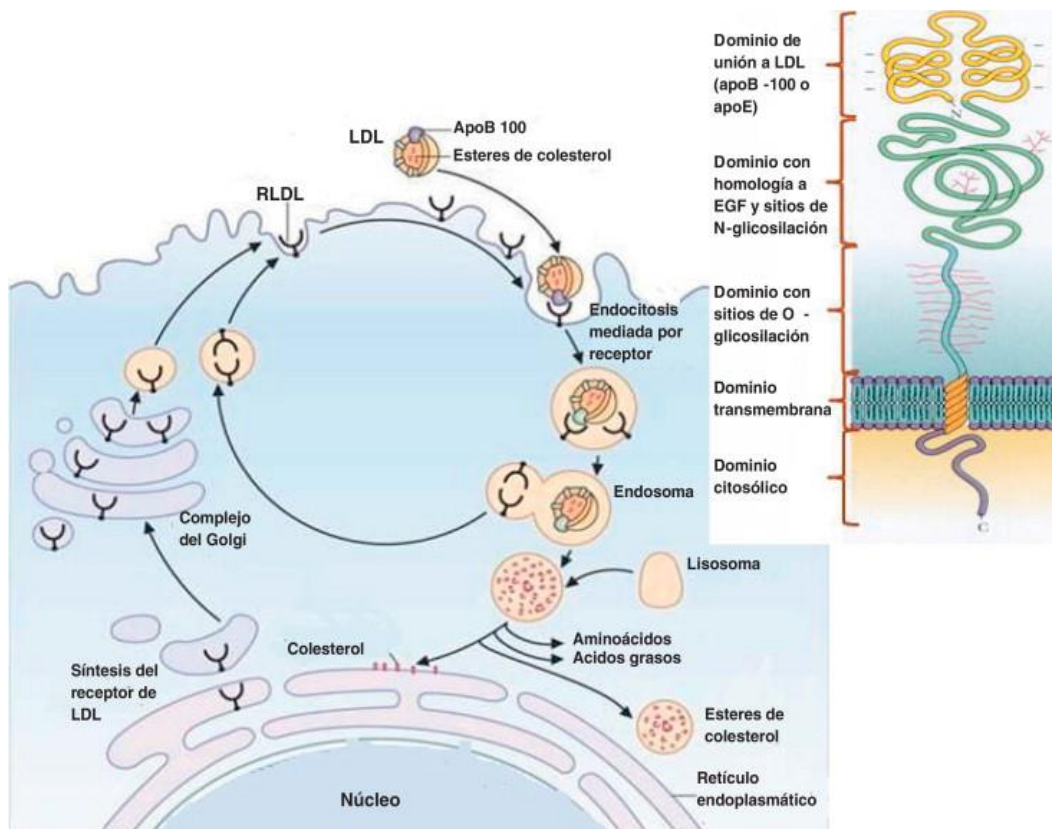
A medida que la VLDL va reduciendo su contenido en triglicéridos se va transformando en una molécula con escasas concentraciones de triglicéridos y altos valores de colesterol. Esta molécula constituye la lipoproteína de densidad intermedia (IDL) (Kwiterovich, 2000).

A partir de este punto, las IDL pueden desviarse por dos rutas metabólicas diferentes. En primer lugar, al igual que los quilomicrones, pueden ser reconocidas por los receptores de apo-E de los hepatocitos, siendo degradadas. La segunda vía constituye la

transformación de la IDL a la lipoproteína de baja densidad (LDL), que está constituida por la apo-B100 y la apo-E. Las LDL son captadas por su receptor específico, el receptor APO-BE, para distribuir los lípidos restantes en los tejidos hepáticos o extrahepáticos (Lehninger y cols., 2000; Kwiterovich, 2000).

Los receptores APO-BE se ubican en las superficies celulares agrupados en zonas de las membranas celulares denominadas *hoyos revestidos*. Estos captan las LDL a través de un sistema conocido como endocitosis mediada por receptor. A través de este mecanismo, se forma un endosoma sobre el que actúan los lisosomas vertiendo su contenido enzimático. Esto provoca la hidrólisis del colesterol esterificado produciéndose colesterol libre (Goldstein y Brown, 2009).

Figura 19. Representación gráfica del ciclo celular del receptor APO-E.



Representación gráfica en la que se aprecia el ciclo celular del receptor de las LDL (APO-E) y sus diferentes estructuras moleculares. Como se puede observar en la imagen, el receptor, una vez que completa su ciclo celular, puede ser degradado o, contrariamente, reciclado para volver a comenzar el ciclo. Tomado de Errico y cols, 2013.

El colesterol libre puede ser utilizado con diferentes fines en función de la célula que lo capte. Estos fines abarcan desde la biosíntesis de las hormonas esteroideas hasta la formación de las membranas celulares. Igualmente, el colesterol libre puede volver a ser

esterificado mediante la acil-colesterol-acil transferasa (ACAT), que añade un ácido graso al colesterol libre para ser almacenado en el interior celular (Ciftci y cols., 2012; Lehninger y cols., 2000; Errico y cols., 2013).

Tras haber internalizado el contenido de las LDL en la célula, el receptor APO-BE se reutiliza y vuelve de nuevo a la superficie celular. Además, la expresión de este receptor se encuentra regulada por las concentraciones intracelulares de colesterol. De este modo, el incremento de colesterol intracelular disminuye la expresión del receptor APO-BE. Sin embargo, un aumento de las necesidades celulares de colesterol o una disminución de sus concentraciones, promueve el incremento de la expresión de este receptor (Goldstein y Brown, 2009; Strickland y cols., 2002).

Transporte inverso del colesterol.

Como se mencionó al comienzo de este apartado, los lípidos pueden ser transportados desde los tejidos periféricos hasta el hígado para su metabolización. Esta función es realizada por las lipoproteínas de alta densidad (HDL), sintetizadas en el hígado (Hall, 2020).

Las HDL nacientes apenas poseen contenido lipídico pues están constituidas en su mayor parte por apoproteínas. De este modo, las HDL representan un depósito de diferentes apoproteínas que, como ya se ha descrito, pueden ser transferidas a diferentes lipoproteínas para que realicen su función correctamente (Kwiterovich, 2000).

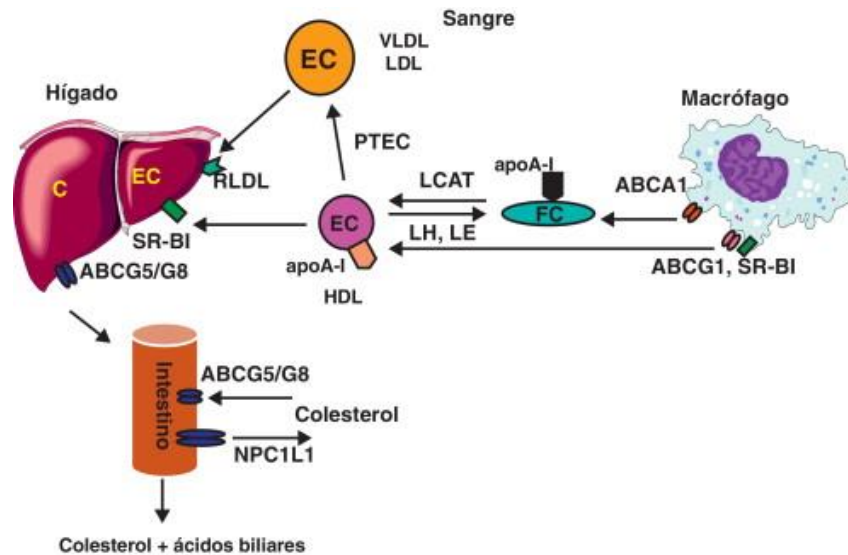
Cuando el HDL naciente pasa al torrente sanguíneo va captando colesterol, otras apoproteínas y fosfolípidos procedentes tanto de las lipoproteínas circulantes como de los diferentes tejidos periféricos. Posteriormente, el colesterol libre se internaliza en las HDL y se reesterifica por la enzima lecitín-colesterol-acil-transferasa (LCAT), ubicada en las propias lipoproteínas, para poder ser transportado (Asztalos y cols., 2007).

Existe una gran variedad de tipos de HDL debido a los intercambios constantes de apoproteínas y otros componentes moleculares con otras lipoproteínas. En este aspecto, son destacables dos clases de HDL: las HDL₂ y las HDL₃. Las HDL₃ se forman por el aporte de apoproteínas, colesterol y fosfolípidos que proceden de las VLDL, los tejidos periféricos y los quilomicrones. Las HDL₂ constituyen una evolución de las HDL₃ debido a la transferencia progresiva de triglicéridos (Lehninger y cols., 2000).

El objetivo de estas lipoproteínas es transportar el colesterol esterificado y los otros compuestos lipídicos desde la periferia hasta el hígado. No obstante, el sistema utilizado

por las HDL para ceder sus compuestos no se ha aclarado todavía con precisión (Fielding, 2002; Kwiterovich, 2000).

Figura 20. Representación esquemática del transporte inverso del colesterol.



Representación esquemática en la que se resume los procesos del transporte inverso del colesterol mediado por las HDL. El colesterol transportado por las HDL puede ser captado a nivel hepático para formar ácidos biliares que pueden ser eliminados por la vía fecal o reabsorbidos en el intestino. Tomado de Errico y cols, 2013.

Clásicamente, las HDL han sido consideradas como beneficiosas para la salud del individuo pues evitan la acumulación excesiva de colesterol en los vasos sanguíneos y otros tejidos previniendo el riesgo de aterosclerosis. Contrariamente, el exceso de LDL ha sido establecido como patológico pues una gran cantidad de autores sostiene que incrementa el riesgo de aterosclerosis con todas las consecuencias fisiopatológicas que ello conlleva (Tomkin, 2012; Stein, 1999).

Sin embargo, están surgiendo nuevas perspectivas que consideran incompletos los anteriores enfoques tradicionales. Actualmente, se exponen, entre otras hipótesis, que las LDL oxidadas (ox-LDL) son el epicentro del riesgo aterosclerótico y de la cardiopatía coronaria, es decir, no solo influye el recuento total de LDL serológico sino que también es crucial la composición bioquímica de la lipoproteína (Ali y cols., 2017; Kattoor y cols., 2018). Esta controversia se discute con más detalle en posteriores apartados del presente trabajo.

Efectos de las microalgas sobre los parámetros bioquímicos: bases farmacodinámicas.

Generalmente, las microalgas se han asociado con importantes efectos hipolipemiantes. Aunque muchos de los mecanismos que subyacen a tales efectos son desconocidos, la literatura científica arroja una gran cantidad de resultados que demuestran los posibles efectos hipocolesterolémicos e hipolipemiantes que podrían desencadenar diversos compuestos bioactivos presentes en las microalgas.

Varios ensayos clínicos en humanos han evaluado la actividad hipolipemiente de la *Spirulina*. Se ha comprobado que la suplementación con *Spirulina* puede ser eficaz para reducir los niveles lipídicos en humanos, apreciándose disminuciones significativas del colesterol sérico total, de las LDL y de los triglicéridos tras la suplementación con *Spirulina* (Deng y Chow, 2010).

También se ha demostrado que la suplementación con *Chlorella vulgaris* puede alterar las concentraciones lipídicas en el hígado y en el suero de ratas, reportándose acciones antilipídicas y antiateroscleróticas (Zhao y cols., 2015). En esta línea, diversos autores han informado que los lípidos totales séricos y la concentración de triglicéridos hepáticos disminuyen tras la suplementación con *Chlorella vulgaris* (Sano y Tanaka, 1987; Shibata y cols., 2001). Además, tras la ingesta de *Chlorella vulgaris* se ha observado que las excreciones de colesterol y de los lípidos totales en heces aumentan significativamente (Lee y cols., 2008). En consonancia con estos hallazgos, se ha establecido que ciertos componentes de las microalgas, como los polisacáridos y los fitoesteroles, podrían reducir la absorción intestinal de grasas en el TG, lo cual implicaría una mayor metabolización de los compuestos lipídicos endógenos para sintetizar biomoléculas que, junto a la disminución de la absorción intestinal de los lípidos, produciría un efecto hipolipemiente biológicamente detectable (Gylling y cols., 2014; Jacob-Lopes y cols., 2019).

Varios compuestos bioactivos de las microalgas se han asociado a este efecto hipolipemiente, los más representativos son: los carotenoides, los polisacáridos, los fitoesteroles y los AGPI cuyos mecanismos de acción son discutidos en posteriores apartados de este trabajo de tesis doctoral (Zhao y cols., 2015).

Con relación a otros parámetros bioquímicos, destacan las enzimas transaminasas que catalizan la transferencia del grupo amino de un aminoácido a otro. Esto constituye un

proceso reversible y es fundamental para la eliminación del amonio procedente de los compuestos nitrogenados (Lehninger y cols., 2000).

Las transaminasas se ubican a nivel intracelular en una gran variedad de tejidos como el hígado, el corazón, el riñón y el músculo (Hall, 2020). La elevación de las concentraciones sanguíneas de estas enzimas, a menudo, implica su liberación desde las células donde se localizan. Por ello, las transaminasas se consideran como uno de los principales biomarcadores de daño celular en el ámbito clínico (Amacher, 1998). Las lesiones celulares pueden tener su origen en múltiples causas, como la toxicidad de ciertas sustancias que penetran en el organismo humano e incluso el incremento de las tasas de estrés oxidativo que conduce a una desestabilización de las membranas celulares (Pujalté y cols., 2011). Aunque las transaminasas se encuentren en muchos compartimentos histológicos diferentes, son muy utilizadas para valorar el daño hepático, muscular y cardíaco (Lehninger y cols., 2000; Hall, 2020).

Los pigmentos que contienen las microalgas son considerados en la literatura científica como los compuestos bioactivos con mayores efectos hepatoprotectores presentes en estos microorganismos. Tanto las ficobiliproteínas como los carotenoides exhiben propiedades hepatoprotectoras (De Morais y cols., 2018; Murthy y cols., 2005). Una de las explicaciones más trascendentales en relación a la hepatoprotección mediada por estos pigmentos es el alto potencial antioxidante que poseen. De este modo, los pigmentos podrían estabilizar las membranas celulares de los diferentes tejidos haciéndolas más resistentes al daño celular (Chaudhary y cols., 2020; Sharp y cols., 2021b). Esto concuerda con los resultados obtenidos en diversos estudios donde el consumo de microalgas disminuye las concentraciones sanguíneas de transaminasas en situaciones fisiopatológicas o de estrés fisiológico inducido en animales y en humanos (Bagheri y cols., 2022; El-Baz y cols., 2020).

También, se ha comprobado que las microalgas que poseen más combinaciones de carotenoides, como el género *Dunaliella* que presenta xantofila y otros carotenoides en su composición, poseen efectos hepatoprotectores más potentes en comparación con las microalgas que contienen solo un tipo de carotenoide, como la *Spirulina* que solamente presenta β -carotenos (Murthy y cols., 2005). Por lo tanto, se piensa que la combinación de diferentes tipos de carotenoides en una misma microalga podría conllevar diversos efectos sinérgicos que beneficien la salud del individuo (Murthy y cols., 2005).

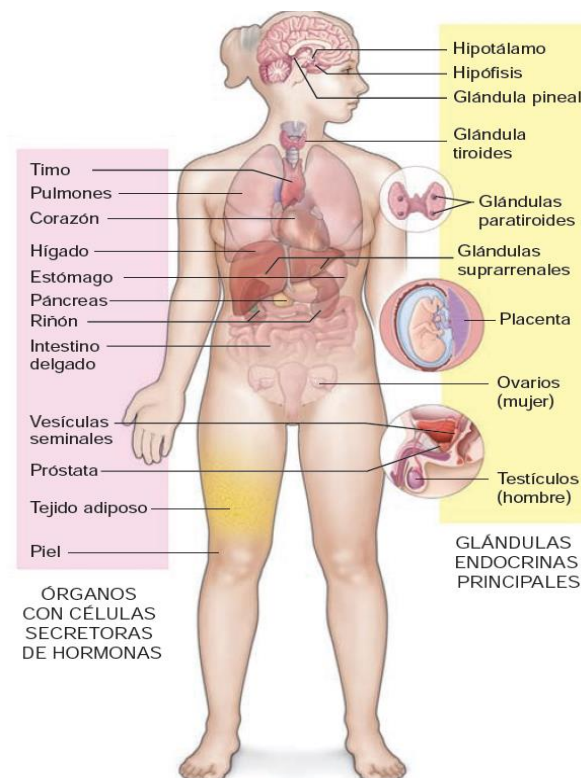
1.5.2.4. Efectos de las microalgas sobre el sistema neuroendocrino.

El sistema neuroendocrino: bases fisiológicas.

Para que el organismo funcione correctamente, sus diversos compartimentos histológicos deben comunicarse entre sí. De este modo, se consigue mantener la homeostasis. La comunicación entre varias regiones del organismo también es esencial para permitir que este responda apropiadamente a cualquier cambio en los ambientes interno y externo. Dos principales sistemas garantizan la comunicación celular: el sistema endocrino y el sistema nervioso. Ambos se complementan entre sí, de manera que los estímulos del sistema nervioso pueden influir en la liberación de ciertas hormonas y viceversa (Hall, 2020; Jelkmann, 2016).

El sistema neuroendocrino es una red altamente compleja de hormonas y glándulas con estrictos sistemas de control fisiológicos que se distribuyen por todo el organismo humano. Se ha considerado tradicionalmente que las glándulas endocrinas están constituidas por el hipotálamo, la glándula pituitaria o hipófisis, las glándulas suprarrenales, las gónadas, la glándula tiroidea, las glándulas paratiroides, la porción del páncreas endocrino, el timo (en niños) y la placenta (Hall, 2020). Además, en los últimos años se han añadido otros órganos que actúan como glándulas endocrinas al poseer diversas células con la capacidad de secretar moléculas con funciones hormonales. A este conjunto de órganos se les denomina sistema endocrino difuso y está formado por el sistema digestivo, el corazón, el riñón, el endotelio, el sistema inmune, el tejido adiposo y el tejido muscular (Herrington, 2014; Krysiak y cols., 2012; Perle, 2021).

En términos generales, las hormonas son moléculas secretadas por las glándulas endocrinas y controlan el metabolismo, el desarrollo, el crecimiento, la reproducción y el equilibrio hidroelectrolítico de los fluidos corporales. Ante estímulos específicos las glándulas responden liberando su contenido hormonal al torrente sanguíneo. Posteriormente, las hormonas se transportan a través de la sangre hacia sus células diana, las cuales se caracterizan por poseer receptores específicos para el reconocimiento de dichas hormonas. La interacción entre las hormonas y sus receptores desencadena diferentes cascadas de reacciones bioquímicas en las células diana que eventualmente modifican la función o la actividad celular (Hall, 2020; Herrington, 2014).

Figura 21. Localización de los principales tejidos endocrinos.

En esta figura se representan las glándulas endocrinas principales que se encuentran formadas mayormente por células secretoras de hormonas en su parénquima glandular. En esta imagen también se ilustran los diferentes órganos con células secretoras de hormonas, actualmente clasificados como parte del sistema endocrino difuso. Tomado de Pawlina y Ross, 2016.

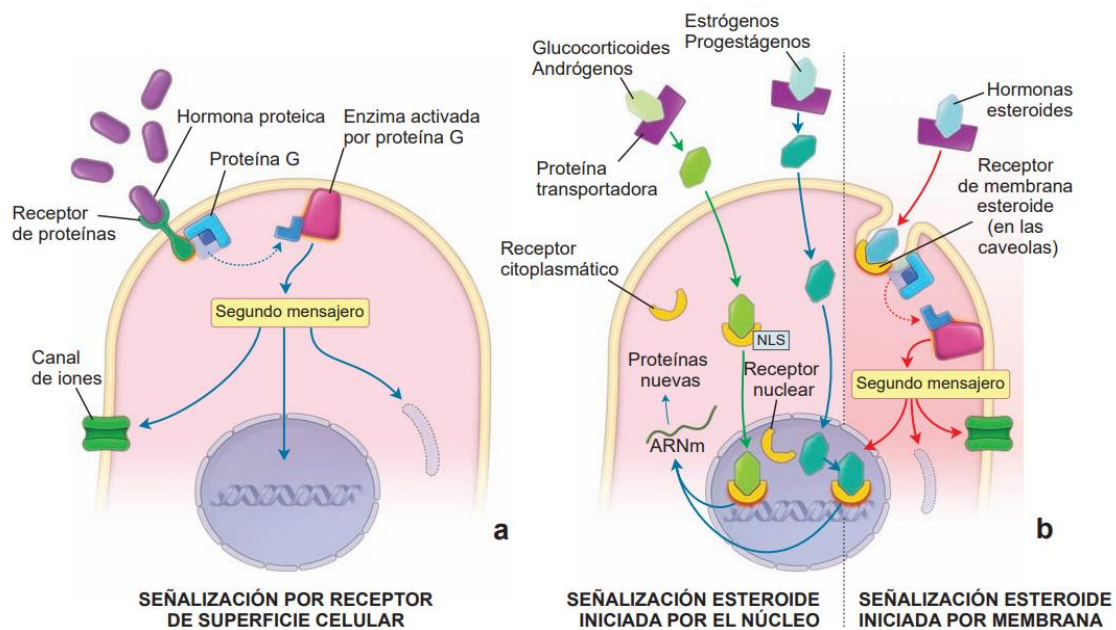
Existen distintos tipos de hormonas que se diferencian en sus estructuras moleculares generales y en sus mecanismos de acción. Se pueden distinguir hormonas esteroideas, hormonas polipeptídicas y hormonas proteicas (Melmed y Kenneth, 2016).

En este aspecto, los esteroides producidos por las gónadas y parte de la glándula suprarrenal poseen una estructura molecular basada en el colesterol. Por ello, estas moléculas, al ser lipofílicas, tienen la capacidad de atravesar las membranas biológicas e interactuar con receptores citoplasmáticos y nucleares. Posteriormente, los complejos hormona-receptor se unen a ciertas regiones del material genético de la célula produciendo su activación e induciendo un aumento de la síntesis proteica intracelular (Hall, 2020).

Con respecto a las hormonas polipeptídicas y proteicas, estas son secretadas principalmente por el resto de las glándulas. En algunos casos, se derivan de precursores inactivos que pueden dividirse en una o más hormonas activas a través de ciertos procesos catalíticos. Al no ser liposolubles, estas hormonas no pueden introducirse en la célula,

por lo que interactúan con los receptores de la superficie celular. Esto induce la activación de diversas enzimas y la apertura de distintos canales iónicos cuyos efectos combinados provocan un incremento de la actividad de segundos mensajeros intracelulares que fosforilan ciertas proteínas para que pueda llevarse a cabo la respuesta celular (Lehninger y cols., 2000; Melmed y Kenneth, 2016).

Figura 22. Representación gráfica de los principales mecanismos de acción hormonales.



Representación gráfica en la que se aprecia los mecanismos de acción básicos que poseen las hormonas en función de su naturaleza química. En la imagen “a” se representa el mecanismo de acción de las hormonas proteicas que no pueden atravesar la membrana celular y deben unirse a los receptores de la misma. En la imagen “b” se observa el mecanismo de acción de las hormonas esteroideas que pueden atravesar la membrana celular gracias a su naturaleza lipofílica y desencadenar sus efectos sobre el núcleo celular. Tomado de Pawlina y Ross, 2016.

Los ejes neuroendocrinos y su regulación.

Tradicionalmente, el sistema neuroendocrino se ha clasificado en diferentes ejes hormonales que de forma genérica incluyen la comunicación del hipotálamo con la hipófisis y una tercera glándula endocrina periférica (Hiller-Sturmhöfel y Bartke, 1998).

Las hormonas hipotalámicas son sintetizadas por neuronas pues el hipotálamo es parte del sistema nervioso central (SNC). El hipotálamo constituye el enlace principal entre el sistema nervioso y el endocrino. Además, la función hipotalámica está influenciada tanto por el medio externo como por el medio interno como consecuencia de

las características anatómo-funcionales del hipotálamo. Los estímulos hipotalámicos del entorno externo son muy variados. Entre ellos, destacan los olfativos, los visuales, los auditivos, la temperatura, la luz y la oscuridad (Hall, 2020; Melmed y Kenneth, 2016).

Por otra parte, la comunicación entre otras áreas cerebrales y el hipotálamo implica la transmisión de señales electroquímicas a través de diferentes neurotransmisores. La compleja interacción entre las acciones de varios neurotransmisores así como entre los diferentes estímulos externos y sistemas de retroalimentación regula de forma global la producción y la secreción de las hormonas hipotalámicas (Hiller-Sturmhöfel y Bartke, 1998).

Las hormonas hipotalámicas se secretan al sistema portal hipotalámico-hipofisiario para que puedan alcanzar la hipófisis y ejercer allí sus funciones. Se denominan comúnmente como hormonas hipotalámicas liberadoras o inhibidoras debido a que generalmente estas hormonas promueven o inhiben la liberación de las hormonas hipofisiarias. Entre ellas, se incluyen la hormona liberadora de corticotropina (CRH), la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), la hormona liberadora de tirotropina (TRH), la hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH), la somatostatina y la dopamina (Herrington, 2014; Melmed y Kenneth, 2016).

La hipófisis o pituitaria consta de dos partes, la hipófisis anterior y la hipófisis posterior. La hipófisis posterior no produce sus propias hormonas cumpliendo exclusivamente una función de almacenamiento de dos hormonas secretadas por el hipotálamo, la oxitocina y la vasopresina (Herrington, 2014). Sin embargo, la hipófisis anterior posee receptores celulares para las hormonas hipotalámicas que inducen la secreción o la inhibición hormonal hipofisiaria (Hiller-Sturmhöfel y Bartke, 1998). De este modo, el compartimento anterior hipofisiario sintetiza varias hormonas importantes que son exportadas al torrente circulatorio sistémico y estimulan a las glándulas y órganos periféricos, con la finalidad de activar la producción hormonal de las glándulas dianas e incluso influir directamente en la función celular del órgano afectado (E. Hall John, 2020). Las hormonas pituitarias incluyen las gonadotropinas, la tirotropina (TSH), la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), la hormona del crecimiento (GH) y la prolactina (Becker, 2001).

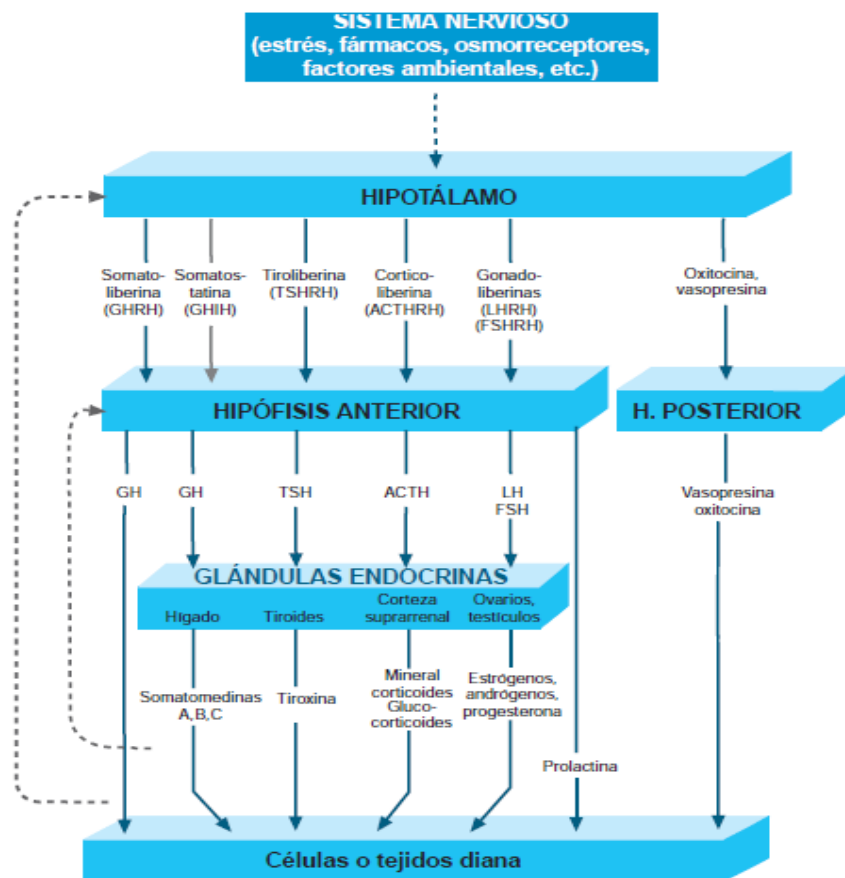
La ACTH, la TSH y las gonadotropinas actúan sobre diversas glándulas periféricas. De esta manera, la ACTH estimula la corteza suprarrenal para que sintetice

corticoesteroides, principalmente cortisol (C), así como pequeñas cantidades de hormonas sexuales masculinas y femeninas (Becker, 2001). Las gonadotropinas, constituidas por la hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante del folículo (FSH), regulan la producción de testosterona (TES) y de estrógenos en los testículos y los ovarios, respectivamente, así como la síntesis de células germinales en ambos sexos (Hiller-Sturmhöfel y Bartke, 1998). Además, la TSH estimula la glándula tiroides para que sintetice y secrete las hormonas tiroideas (Melmed y Kenneth, 2016).

Con respecto a la GH y a la prolactina, ambas actúan modificando directamente la bioactividad de los tejidos diana. Además, la GH puede ejercer sus efectos de forma indirecta al estimular la producción de una molécula llamada factor de crecimiento similar a la insulina – 1 (IGF-1) en el hígado, en los riñones y en algunos otros compartimentos fisiológicos. El IGF-1 es exportado al torrente sanguíneo donde se une a los receptores de los órganos diana ejerciendo sus funciones correspondientes (Birzniece y Ho, 2021; Fernyhough y cols., 1993; Hiller-Sturmhöfel y Bartke, 1998).

Por otra parte, existen otras glándulas cuya secreción hormonal no se ve influenciada por las hormonas hipofisarias, como el páncreas endocrino y las glándulas paratiroides (Hall, 2020). Estas glándulas son estimuladas en función de las concentraciones sanguíneas de ciertas moléculas pertenecientes a las vías metabólicas que regulan. En el caso del páncreas endocrino, su secreción depende principalmente de las concentraciones de glucosa sanguínea, liberando glucagón o insulina (Herrington, 2014). Con respecto a la glándula paratiroidea, esta responde según las concentraciones de calcio sanguíneo produciendo parathormona (PTH). La PTH posee una hormona antagonista en su función, la calcitonina, producida por las células parafoliculares de la glándula tiroidea cuya secreción también obedece a las concentraciones cálcicas existentes (Warren y Constantini, 2000).

La producción y secreción hormonal deben permanecer bajo un estrecho control para que el organismo responda adecuadamente a los cambios del entorno. A pesar de que las vías de control endocrinas han sido ampliamente investigadas aún quedan muchas incógnitas por resolver. Es bien conocido que estas vías de control pueden ser de retroalimentación negativa o positiva. La retroalimentación negativa constituye el sistema de control más conocido y estudiado. No obstante, la retroalimentación positiva aún no se ha comprendido suficientemente (Hall, 2020; Hiller-Sturmhöfel y Bartke, 1998).

Figura 23. Esquema del eje neuroendocrino hipotalámico-hipofisiario.

Las hormonas hipotalámicas estimulan la síntesis de las hormonas hipofisarias que, posteriormente, activan a las glándulas endocrinas periféricas. Además, en el hipotálamo se producen hormonas inhibitorias (en gris). Igualmente, en el esquema se pueden apreciar algunos procesos de retroalimentación negativa (en gris discontinuo). Tomado de Lozano y cols, 2005.

Desde una perspectiva general, el control neuroendocrino puede manifestarse en estos tres niveles (Warren y Constantini, 2000):

1. Hipotalámico.
2. Hipofisiario.
3. Glándulas endocrinas periféricas. Como anteriormente se ha descrito, estas son estimuladas por las hormonas hipofisarias o por moléculas de la vía metabólica a la que pertenecen, como la glucosa (insulina/glucagón) o el calcio (PTH/calcitonina).

Las vías de retroalimentación negativa hacen referencia a la disminución de la secreción hormonal mediada por diversas señales bioquímicas. De acuerdo con esta idea,

el sistema de retroalimentación negativa puede ser de las siguientes formas (Hall, 2020; Melmed y Kenneth, 2016):

- **De bucle corto.** Producido por la comunicación entre el hipotálamo y la hipófisis. Según las concentraciones hormonales que la hipófisis presente, el hipotálamo secreta hormonas estimulantes o inhibitoras de esta.
- **De bucle largo.** Producido por la interacción entre las hormonas periféricas y el SNC. Las hormonas periféricas aumentan debido a la actuación de las hormonas secretadas por la hipófisis. Tras este aumento de las concentraciones hormonales periféricas, se produce la disminución de la síntesis hormonal, tanto a niveles hipotalámicos como hipofisarios.
- **De vía metabólica.** En este caso, la presencia o ausencia de diversas moléculas tales como la glucosa o el calcio regula la secreción hormonal de ciertas glándulas periféricas como el páncreas endocrino o la glándula paratiroidea, respectivamente.

Efectos de las microalgas sobre el sistema neuroendocrino: bases farmacodinámicas.

El cuerpo de evidencias científicas que ha estudiado los posibles efectos del consumo de microalgas sobre los diferentes ejes del sistema neuroendocrino es escaso y altamente limitado. Cabe resaltar aquí que las observaciones más consistentes se han manifestado principalmente en las hormonas que se vinculan estrechamente con los procesos anabólicos.

Los hallazgos más sólidos que se han observado guardan relación con el posible efecto del consumo de las microalgas sobre la producción androgénica. En este aspecto, se ha observado que las microalgas podrían optimizar la síntesis de andrógenos debido a su potencial antioxidante e inmunomodulador (Farag y cols., 2016; Martin y Touaibia, 2020a). Tanto la *Chlorella vulgaris* como la *Spirulina* son las especies que más evidencias poseen en cuanto a su potencial androgénico, reportándose que la ingesta de estas microalgas podría mejorar incluso el rendimiento testicular (Ibrahim y cols., 2021). Según estas observaciones, algunos autores han propuesto las siguientes explicaciones para tales efectos:

En primer lugar, se ha comprobado que el potencial antioxidante que poseen todos los pigmentos de las microalgas y otros de sus compuestos bioactivos pueden reducir el

estrés oxidativo testicular (Ciftci y cols., 2012). Esto es de gran interés científico, pues los testículos son órganos que, debido a su elevada actividad biológica, se encuentran sometidos a altos niveles de estrés oxidativo (Asadi y cols., 2017). De acuerdo con esto, existen reportes que han evidenciado que la suplementación con microalgas en ratas optimiza las funciones catalíticas de las enzimas esteroideogénicas localizadas en las células de Leydig, promoviendo la síntesis androgénica y la protección del daño celular causado por el estrés oxidativo (Barkallah y cols., 2020; Ciftci y cols., 2012).

En segundo lugar, los compuestos inmunomoduladores de las microalgas, como ciertos sulfolípidos, los AGPI y diversos pigmentos, podrían estabilizar la expresión del receptor de andrógenos (AR) a través de una inhibición de la apoptosis celular mediada por la disminución de las concentraciones del TNF α y de la caspasa-3 (Ibrahim y cols., 2021). Esto desencadenaría una mejora significativa de las funciones androgénicas, favoreciéndose la bioseñalización intracelular de los andrógenos (Melmed y Kenneth, 2016).

Finalmente, en relación con la GH, algunos modelos en animales han demostrado que la suplementación con altas dosis de *Spirulina* puede incrementar las concentraciones séricas del IGF-1, de GH y de la proteína de unión al factor de crecimiento similar a la insulina 3 (IGFBP-3) (Cho y cols., 2020). Por otra parte, se ha comprobado en modelos *in vitro* que la *Chlorella Vulgaris* aumenta la expresión del receptor del IGF-1 (IGFR-1) en mioblastos de músculo esquelético humano (Azlan y cols., 2019).

Péptidos bioactivos.

Como ya se ha detallado en anteriores apartados del presente trabajo, los péptidos bioactivos (PA) liberados durante los procesos digestivos de las microalgas pueden absorberse de manera intacta mediante ciertos mecanismos de transporte intestinal. Una vez que los PA alcanzan el torrente circulatorio poseen la capacidad de mimetizar las dinámicas hormonales, actuando sobre una gran cantidad de receptores específicos e induciendo una elevada variedad de respuestas celulares (Subramaniyan y cols., 2021; Komin y cols., 2017). Por lo tanto, se ha considerado de especial interés enmarcar los PA dentro de los posibles efectos endocrinos de las microalgas.

Tanto la estructura como la composición bioquímica de los PA condicionan notablemente sus mecanismos de acción. Consecuentemente, existe un amplio abanico de PA con diferentes efectos fisiológicos. Los principales PA respaldados por un cuerpo

considerable de evidencias científicas son los PA antihipertensivos, los PA anticancerígenos, los PA antiatróficos, los PA antiateroscleróticos, los PA antimicrobianos, los PA inmunomoduladores y los PA antioxidantes. En las próximas líneas, se detallan desde una perspectiva general algunas de sus características.

Péptidos bioactivos antihipertensivos.

La hipertensión es una enfermedad crónica en humanos que constituye un trastorno multifactorial considerado una de las principales causas de muerte prematura en todo el mundo. Esta patología causa más de nueve millones de muertes al año y afecta aproximadamente a mil millones de personas (Mills y cols., 2020). Los fármacos antihipertensivos convencionales provocan inevitablemente efectos secundarios. Por ello, se han realizado grandes esfuerzos para explotar sustitutos más saludables y disponibles (Jiang y cols., 2021a). Ya en la década de 1980, se informó acerca de los efectos antihipertensivos de las microalgas, registrándose que la *Chlorella* disminuía la presión arterial al modular el sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) sin que se conociera de forma precisa su mecanismo de acción (Miyakoshi, 1980). Posteriormente, se ha demostrado a través de estudios *in vivo* e *in vitro* que estos efectos se relacionan con la presencia de multitud de PA antihipertensivos encriptados en las proteínas de las microalgas, destacando géneros como *Chlorella*, *Spirulina*, *Isochrysis* y *Nannochloropsis* (Jiang y cols., 2021b). Mediante continuas investigaciones se ha propuesto que estos PA muestran efectos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA) pues poseen funciones similares a los fármacos antihipertensivos convencionales (Hou y cols., 2003).

Diversos trabajos han verificado que los PA inhibidores de la ECA podrían actuar a través de estos dos mecanismos: uno competitivo y otro no competitivo. Los PA competitivos se unen al sitio activo de la ECA inhabilitándola. Por otra parte, los PA no competitivos cambian la conformación de la ECA evitando que el sustrato se una al sitio activo y, consecuentemente, disminuyen su función enzimática (Jiang y cols., 2021b).

Además, generalmente ha sido aceptado que los PA inhibidores de la ECA más potentes son los de cadena corta (Daskaya-Dikmen y cols., 2017). En este sentido, hasta donde se conoce actualmente, los PA antihipertensivos de las microalgas poseen entre 2 y 11 aminoácidos (ver tabla 3), lo cual podría fundamentar su posible acción antihipertensiva (Jiang y cols., 2021b).

Tabla 3. Principales péptidos bioactivos de carácter antihipertensivo.

Mecanismo inhibitorio	Géneros	Secuencias peptídicas
No competitivo		TTW
	<i>Chlorella vulgaris</i>	VHW
		VECYGPNRPQF
	<i>Spirulina platensis</i>	IQP
	<i>Nanocloropsis oculata</i>	LVTVM
Competitivo	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	VEGY
	<i>Tetradlesmo oblicuo</i>	WYGPDRPKFL

Tabla de elaboración propia con base en la información obtenida de Qichén Jiang y cols, 2021. Abreviaturas de aminoácidos: A (alanina), R (arginina), N (asparagina), D (aspartato), C (cisteína), Q (glutamina), H (histidina), L (leucina), K (lisina), M (metionina), F (fenilalanina), P (prolina), T (treonina), W (triptófano), Y (tirosina) y V (valina).

Péptidos bioactivos anticancerígenos.

El cáncer es, junto con las enfermedades cardiovasculares, la principal causa de muerte en los países industrializados de todo el mundo (Mattiuzzi y Lippi, 2019). Aunque el tratamiento y la prevención del cáncer están mejorando gradualmente, la mayoría de opciones terapéuticas actuales, a menudo, solo prolongan la supervivencia sin brindar la curación completa deseada y, muy frecuentemente, causan en los pacientes efectos secundarios graves así como potentes resistencias a los en los pacientes (Byrnes y cols., 2019). Debido a esta situación, los péptidos bioactivos anticancerígenos contenidos en las microalgas han atraído la atención de los investigadores. Gracias a las propiedades que estos PA exhiben, muchos autores los consideran como una posible herramienta terapéutica complementaria para combatir el cáncer (Skjånes y cols., 2021).

Las posibles propiedades inhibitorias del cáncer por parte de los PA presentes en las microalgas involucran numerosos mecanismos de acción relacionados con el proceso carcinogénico. Dicho proceso avanza mediante diferentes mutaciones de genes críticos para el cáncer, ya sea por mutaciones de ganancia de función (protooncogenes) o por mutaciones de pérdida de función (genes supresores de tumores) (Prior y cols., 2020). Muchos de estos genes son cruciales en la regulación del ciclo celular y constituyen

puntos de control mediante los cuales se puede detener la división celular como parte del mantenimiento de la homeostasis celular normal (Lehninger y cols., 2000).

Por lo tanto, la regulación del ciclo celular constituye una diana terapéutica para inhibir el crecimiento de las células cancerosas. De hecho, ciertos extractos peptídicos de *Chlorella vulgaris* han mostrado tener potentes efectos antiproliferativos y citotóxicos dependientes de la dosis administrada sobre las células de adenocarcinoma gástrico, induciendo la detención del ciclo celular posterior a la fase G1 (Sheih y cols., 2010).

La inhibición de la apoptosis o muerte celular programada, constituye otro de los pilares del proceso carcinogénico. La apoptosis se produce generalmente a través de dos vías bien descritas y ambas estimuladas por la activación de las caspasas celulares, como son la vía mitocondrial intrínseca y la vía extrínseca del receptor ligando. La inhibición de los genes que promueven la apoptosis favorece la proliferación incontrolada de las células cancerosas, por lo que constituye otra de las dianas para combatir el cáncer (Bredesen, 2009). En consonancia con lo anterior, se ha observado que diversos extractos de *Chlorella sorokiniana* inducen la apoptosis mediada por la vía intrínseca en líneas celulares de cáncer de pulmón no microcítico mediante la inhibición de los factores antiapoptóticos Bcl-2 y XIAP (Lin y cols., 2017).

Otro factor crítico en el proceso cancerígeno es la metástasis. Las células malignas adquieren la capacidad de invadir tejidos y vasos locales, moverse a través de la circulación sistémica y, posteriormente, establecer nuevas colonias celulares en tejidos distantes. Este es el aspecto más letal y menos comprendido del cáncer (Ha y cols., 2013).

Algunas proteínas como las metaloproteasas (MMP) poseen un rol fundamental en la inducción de la migración e invasión tumoral. Estas moléculas permiten disolver la membrana basal y el estroma subyacente, facilitando la migración de la célula tumoral al torrente sistémico (Foley y cols., 2012). Por ello, las MMP se consideran un objetivo terapéutico importante para la prevención metastásica (Heath y Grochow, 2000). En esta línea, se ha comprobado que un heptapéptido aislado de la microalga marina *Pavlova lutheri*, con secuencia LLAPPER, ha mostrado fuertes efectos dañinos sobre las células de fibrosarcoma humano, debido a que puede provocar la inhibición de la metaloproteasa 9 (MMP-9) (Ko y cols., 2018).

Péptidos bioactivos antiateroscleróticos.

La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria focal de las arterias que representa la principal causa de accidente cerebrovascular y de enfermedad cardiovascular (Hoffbrand y Steensma, 2020). En este cuadro clínico se produce una oclusión de las arterias debido a la formación de lesiones o placas que disminuyen el flujo sanguíneo. Dichas placas están constituidas principalmente por lípidos, como el colesterol, que se acumulan con el paso de los años en la íntima de las arterias. (Singh y cols., 2002) Se ha establecido que el inicio y la progresión del proceso aterosclerótico se encuentran relacionados con la presencia de moléculas de adhesión circulantes (CAM), las cuales son expresadas en el endotelio vascular. Además, estos procesos también se vinculan con la expresión de la enzima acetilhidrolasa del factor activador de plaquetas (PAF-AH) (Singh y cols., 2002).

En este aspecto, se ha verificado que el conocido undecapéptido de *Chlorella vulgaris*, con secuencia VECYGPNRPQF, posee actividad antiaterosclerótica *in vitro*, reduciendo la producción de importantes moléculas de adhesión vascular involucradas en el proceso aterosclerótico. Entre ellas, destaca la selectina de células endoteliales (selectina-E), la molécula de adhesión de células vasculares (VCAM) y la molécula de adhesión intercelular (ICAM) (Shih y cols., 2013). Por otra parte, Fitzgerald y cols. (2013) aislaron un tetrapéptido, con secuencia NIGK, procedente de la macroalga *Palmaria palmata* que mostró un fuerte efecto inhibitorio del PAF-AH, altamente expresado en las lesiones ateroscleróticas (Fitzgerald y cols., 2013). Además, se ha informado que dos PA de *Spirulina máxima*, con secuencias LDAVNR y MMLD, inhiben la expresión de las CAM mediante una reducción de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) (Sathya y cols., 2021).

Péptidos bioactivos inmunomoduladores.

Los péptidos bioactivos inmunomoduladores facilitan el funcionamiento sostenido de las células inmunitarias a través del aumento del recuento de leucocitos y la inducción de sus citocinas (Sathya y cols., 2021). Además, los inmunopéptidos regulan notablemente la proliferación de los linfocitos y aumentan la actividad fagocítica de los macrófagos (Ahn y cols., 2008). En relación con estas observaciones, se ha reportado que la administración oral de un aislado de proteína de *Chlorella vulgaris* estimula las respuestas inmunes innatas y adaptativas, aumentando los linfoblastos que se diferencian

en linfocitos T y reconstituyendo las reacciones de hipersensibilidad retardadas (DTH) (Morris y cols., 2007).

Otros estudios en macroalgas también han demostrado el papel inmunomodulador de sus biopéptidos. En este sentido, se ha comprobado en modelos *in vitro* que la macroalga *Alariaceae Ecklonia cava* puede estimular la proliferación de los linfocitos, los granulocitos y los monocitos (Ahn y cols., 2008). De este modo, los autores reportaron aumentos drásticos del número de linfocitos T CD8, linfocitos T CD4 y linfocitos B, registrándose incrementos significativos de las citocinas IL-4 e IL-10 y disminuciones del TNF α y el IFN- γ .

Aunque las evidencias concuerdan y apuntan hacia el potencial efecto inmunomodulador de las microalgas, son necesarias más investigaciones con la finalidad de identificar de forma precisa los inmunopéptidos que podrían producir tal efecto.

Péptidos bioactivos antiatróficos.

Los procesos atróficos del músculo esquelético se caracterizan por una disminución de la tasa de síntesis proteica intramuscular, así como por una degradación excesiva de las proteínas musculares (Tabebordbar y cols., 2013). Muy pocos autores se han interesado por este tipo de biopéptidos en las microalgas. Sin embargo, a la vista de los efectos fisiológicos propios del consumo de las microalgas existen fuertes indicios que hacen pensar en la posible presencia de ciertos péptidos anabólicos en estas.

Ciertos estudios sugieren que el péptido conocido como PYP15, procedente del alga roja *Porphyra yaezoensis*, disminuye considerablemente la expresión de los genes que codifican para la atrogina-1, la cual forma parte del sistema ubiquitina-proteosoma encargado de la degradación proteica (Lee y cols., 2019). Adicionalmente, se ha observado que otros de los mecanismos antiatróficos del PYP15 parecen estar mediados por una mejora de la fosforilación a nivel de sustrato del IGF-1, que, a su vez, activa la vía akt-mTORC1 induciendo el aumento de la tasa de síntesis proteica intramuscular a través de la fosforilación de p70S6K y de la inhibición de 4E-BP1 (Subramaniyan y cols., 2021). De acuerdo con esto último, se ha demostrado que el PYP15 puede incrementar la fosforilación de p70S6K y facilitar las funciones de la mTOR (Lee y cols., 2019). Por lo tanto, todas estas apreciaciones revelan que el PYP15 podría proteger las células musculares mediante una mayor sensibilización al IGF-1 y a través de la regulación

positiva de sus vías de señalización aguas abajo incluyendo la disminución de los procesos de catabolismo proteico intramusculares.

Péptidos bioactivos antioxidantes.

Existen diversas especies reactivas de oxígeno (ERO), como el radical hidroxilo (OH^\cdot), el radical superóxido (O_2^\cdot), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el oxígeno singlete, el hipoclorito (ClO^\cdot), el radical peroxinitrito (ONO^\cdot) y los radicales peroxilos (ROO^\cdot). Ante ciertas situaciones de estrés fisiológico dichos radicales pueden superar la capacidad de los sistemas antioxidantes habituales. Esto se ha asociado con el aumento del riesgo de padecer múltiples tipos de patologías como el cáncer, la hipertensión, la diabetes mellitus, las enfermedades inflamatorias y ciertas patologías neurodegenerativas (Berkaitan y cols., 2015).

Las microalgas deben sobrevivir al entorno hostil de las profundidades marinas donde las concentraciones de oxígeno, junto con las pobres condiciones de luminosidad, fomentan la bioacumulación de EROs en las células de estos microorganismos (Levine y Fleurence, 2018). Como consecuencia de este hecho, las microalgas han desarrollado potentes sistemas antioxidantes con la finalidad de combatir las condiciones extremas del ambiente en el que habitan (Cunha y Pintado, 2022). Por ello, estos microorganismos se han considerado desde hace mucho tiempo como una fuente muy valiosa de antioxidantes, pues contienen diversas moléculas con capacidad antioxidante que pueden actuar en el medio interno una vez que son ingeridas (Coulombier y cols., 2021). Estas sustancias se detallan en el próximo apartado de este trabajo.

En relación a la presencia de PA antioxidantes en las microalgas, se ha observado mediante cultivos *in vitro* que el péptido VECYGPNRPQF de la *Chlorella vulgaris* y un péptido aislado de *Ishige okamurae* poseen la capacidad de capturar radicales hidroxilos, radicales superóxidos, radicales de tipo catiónico 2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio (ABTS^+) y radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DDPH) (Coulombier y cols., 2021; Heo y Jeon, 2008).

Péptidos bioactivos antimicrobianos/antibacterianos.

La actividad antibacteriana/antimicrobiana ha sido demostrada en muchos extractos de microalgas pero rara vez se ha informado sobre el aislamiento y la purificación de los péptidos antibacterianos exactos que podrían estar involucrados en estas funciones. En este sentido, Yijun sol y cols. (2016) identificaron en la *Spirulina platensis* un péptido bioactivo con fuertes efectos antibacterianos (Sun y cols., 2016). El péptido en cuestión está compuesto por 18 residuos de aminoácidos, cuya secuencia es KLVDASHRLATGDVAVRA, y fue denominado como SP-1. Estos autores evidenciaron que este péptido posee efectos antibacterianos significativos contra cepas de bacterias gramnegativas y grampositivas alcanzando valores de concentración inhibitoria mínima (CMI) de 8 y 16 mg/mL, respectivamente. Por lo tanto, este péptido posee mayores efectos contra las bacterias gramnegativas pues requiere menores concentraciones para inhibirlas. Además, se comprobó que el SP-1 no posee efectos citotóxicos sobre el resto de células normales de mamíferos por lo que cabe la posibilidad de utilizar dicho péptido en concentraciones relativamente altas (Sun y cols., 2016).

Estudios previos sugieren que la actividad antimicrobiana de los PA presentes en las microalgas depende de su carga, de su tamaño, de la estructura helicoidal y de la hidrofobicidad (Cunha y Pintado, 2022). Generalmente, los péptidos antibacterianos contienen cuatro o más aminoácidos cargados positivamente, así como una mayor proporción de aminoácidos hidrofóbicos. Principalmente, tanto la actividad hidrofóbica como las características catiónicas de los PA condicionan notablemente su poder antimicrobiano (Kim y Kang, 2011). En este aspecto, la presencia de cargas positivas en los PA puede desplazar a los cationes divalentes nativos de los lipopolisacáridos bacterianos cargados negativamente. Este proceso podría desencadenar alteraciones en la membrana externa bacteriana y, en última instancia, perturbar la membrana citoplasmática del microorganismo precipitando su muerte (Guzmán y cols., 2019).

1.5.2.5. Efectos de las microalgas sobre el estrés oxidativo.

Los radicales libres y el estrés oxidativo: bases fisiológicas.

El estrés oxidativo involucra una gran cantidad de fenómenos fisiológicos de alta complejidad, cuyas características han sido abordadas por numerosos autores a lo largo de la historia. Por ello, el presente apartado posee la finalidad de destacar los aspectos

más esenciales del estrés oxidativo para poder comprender de una forma integral los posibles efectos de las microalgas en el organismo humano.

Un radical libre se define como cualquier especie química que contenga uno o más electrones desapareados. El concepto de especies reactivas de oxígeno (ERO) es un término colectivo que engloba los diferentes radicales de oxígeno, entre los que se incluyen el O_2^- , el OH^- y el ROO^- , y diversos reactivos oxidantes derivados de los radicales libres como el H_2O_2 , el ácido hipocloroso (HOCL) y el ozono (O_3). Las ERO o radicales libres se producen durante el metabolismo normal, generándose en múltiples reacciones enzimáticas, en el transporte mitocondrial de los electrones, en las señales de traducción celular, en los procesos de expresión génica, en la activación de factores de transcripción nuclear e, incluso, en los sistemas de acción antimicrobianos de los macrófagos y los neutrófilos (Lehninger y cols., 2000; Sies y cols., 2017).

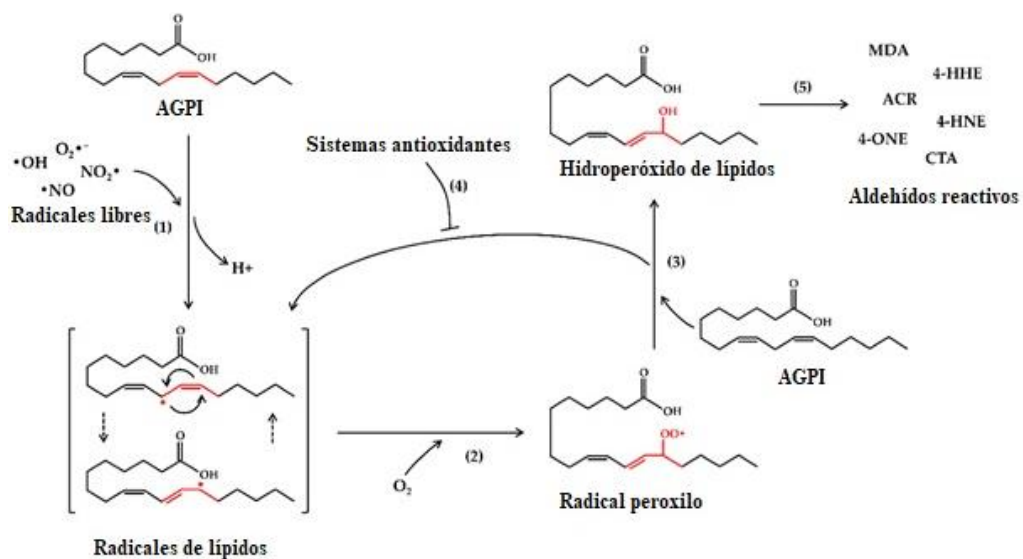
Los radicales libres constituyen especies químicas con alta capacidad para aceptar electrones debido a su inestabilidad electrónica. Esto convierte a las ERO en elementos potencialmente dañinos para distintas moléculas del organismo humano. De este modo, las ERO producidas pueden interactuar con numerosos componentes celulares y modificarlos, entre los que destacan las proteínas, los carbohidratos, los ácidos nucleicos y los lípidos (Jakob y Reichmann, 2013).

Dentro de estos numerosos componentes, los lípidos y más concretamente los ácidos grasos poliinsaturados constituyen uno de los elementos más susceptibles al estrés debido a su estructura bioquímica conformada por dobles enlaces (Long y Picklo, 2010). En este aspecto, la fluidez de las membranas celulares está determinada en gran medida por la presencia de cadenas laterales de ácidos grasos poliinsaturados contenidos en los fosfolípidos de la membrana celular (Lehninger y cols., 2000). El ataque de los radicales libres a los ácidos grasos poliinsaturados puede desencadenar la peroxidación lipídica. De este modo, una vez que se oxida el lípido se producen más radicales libres que se combinan con el oxígeno disuelto en las membranas biológicas formando radicales peroxilos que pueden alterar a las proteínas de la membrana y al resto de ácidos grasos poliinsaturados adyacentes (Gallelli y cols., 2018; S. Zhong y cols., 2019). Así, la peroxidación lipídica consigue propagarse a través de toda la membrana celular, desestabilizándola. Esto puede ocasionar daños en múltiples tipos celulares, alterando los sistemas reguladores de los gradientes iónicos y las actividades enzimáticas esenciales.

Además, los radicales libres en el interior celular pueden atacar el material genético inhibiendo, entre otros muchos, los procesos mitóticos (Recknagel y cols., 2020).

La acción de los radicales libres puede provocar numerosas alteraciones en el ADN. Entre estas alteraciones destacan las rupturas de las cadenas simples de ADN y las modificaciones de sus bases. En este sentido, la alteración predominante de los radicales libres sobre el ADN parece ser la 8-hidroxilación de la guanina, que posee un potencial mutagénico muy elevado (Klaunig y Wang, 2018).

Figura 24. Representación esquemática de algunas reacciones principales de la peroxidación lipídica.



Representación esquemática en la que se muestra la cadena de sucesos que tienen lugar en los procesos de peroxidación lipídica. Los sistemas antioxidantes pueden combatir este fenómeno, pero cuando se saturan tiene lugar el estrés oxidativo y la propagación de la peroxidación lipídica. También, se puede observar en la imagen que los AGPI son los compuestos lipídicos más susceptibles a los procesos de peroxidación lipídica. Modificado de Galleli y cols, 2018.

Como anteriormente se ha mencionado, las proteínas también pueden ser modificadas por los procesos oxidativos. El ataque de las ERO a las proteínas da como resultado la oxidación de los grupos tioles y carbonilos (Finaud y cols., 2012). En este aspecto, la metionina y la cisteína, al poseer sulfuros en su composición bioquímica, constituyen aminoácidos muy propensos al daño oxidativo (Zhang y cols., 2020). La oxidación de la cisteína forma radicales tiilo y disulfuros pero la oxidación de la metionina conduce a la formación de metionina sulfóxido (Gruhlke y Slusarenko, 2012). Estos cambios oxidativos pueden desencadenar la inhibición de las actividades enzimáticas y de su

funcionamiento general. Además, la modificación oxidativa de las proteínas también puede provocar la pérdida de sus funciones (Avery, 2011).

Desde una perspectiva general, el ambiente reductor en el interior celular colabora en la prevención del posible daño causado por los radicales libres. Este entorno reductor se mantiene gracias a la acción de enzimas y sustancias antioxidantes como la glutatión peroxidasa, la superóxido dismutasa, la catalasa, la vitamina C, la vitamina E, la vitamina A, la tiorredoxina y la xantina oxidasa. La saturación de estos sistemas antioxidantes debido a la producción abundante de ERO conduce a un estado de estrés oxidativo que conlleva daños celulares (Gulcin, 2020). Esto constituye un proceso muy evidente durante el envejecimiento, aumentando dramáticamente las posibilidades de padecer diferentes patologías relacionadas con el estrés oxidativo (Liguori y cols., 2018).

Efectos de las microalgas sobre el estrés oxidativo: bases farmacodinámicas.

Como ya se ha descrito en el anterior apartado, las microalgas pueden experimentar mayores niveles de estrés oxidativo y toxicidad como resultado de las condiciones del ambiente en el que residen. Por ello, estos microorganismos han desarrollado potentes mecanismos antioxidantes capaces de capturar y neutralizar las ERO. Los sistemas antioxidantes generales que utilizan las microalgas para lidiar con las ERO guardan grandes similitudes en comparación con los presentes en otros organismos acuáticos y terrestres. Sin embargo, algunas microalgas son conocidas por haber adquirido adaptaciones exclusivas de estos mecanismos (Cirulis y cols., 2013).

Los mecanismos más comunes que protegen a las microalgas del estrés oxidativo los constituyen diversas enzimas y muchos de los componentes bioquímicos citados en las anteriores secciones de esta tesis. Entre estos elementos destacan los siguientes: la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT), la peroxidasa (POD), la glutatión peroxidasa (GPX), la ascorbato peroxidasa (APX), los pigmentos fotosintéticos, los polisacáridos, los polifenoles y las fitoquelatinas (Cirulis y cols., 2013; Rao y cols., 2006).

Los pigmentos son actualmente uno de los productos más comercializados de las microalgas como nutracéuticos antioxidantes (Cirulis y cols., 2013). Dentro de los pigmentos, los carotenoides han sido los más investigados y corroborados en cuanto a su capacidad antioxidante. El patrón de dobles enlaces conjugados en el esqueleto de polieno de los carotenoides determina sus propiedades de absorción lumínica e influye en la actividad antioxidante de los mismos (Levine y Fleurence, 2018). Entre las diferentes

estrategias defensivas de los carotenoides, existen observaciones de que estos pueden participar en la eliminación de dos tipos de ERO, el oxígeno singlete y los radicales peróxidos. Entre estos dos radicales se ha comprobado que los carotenoides reaccionan más eficientemente con los radicales peróxidos (Stahl y Sies, 2003). Estos se generan en el proceso de peroxidación lipídica, por lo que la eliminación de esta especie interrumpe la secuencia de reacciones que finalmente conducen al daño en los compartimentos lipofílicos del organismo. Consecuentemente, diversos autores sostienen que los carotenoides pueden jugar un papel fundamental en la protección de las membranas celulares y las lipoproteínas plasmáticas contra el daño oxidativo, debido a la liposolubilidad y a las propiedades específicas de los mismos (Coulombier y cols., 2021).

Generalmente, el contenido de carotenoides de las microalgas se incrementa cuando existen bajos niveles de estrés oxidativo. No obstante, los fuertes requerimientos inducidos por el estrés oxidativo reducen las concentraciones de carotenoides en las microalgas, lo cual indica el papel protector de dichos pigmentos (Gauthier y cols., 2020). El carotenoide presente en las microalgas que se ha estudiado más intensamente ha sido la astaxantina, muy abundante en especies del género *Haematococo*. Los resultados de un gran cuerpo de trabajos avalan que la astaxantina puede actuar como un potente antioxidante en humanos y se le atribuyen interesantes propiedades nutraceuticas (Hussein y cols., 2006; Lin y cols., 2015; Speranza y cols., 2012).

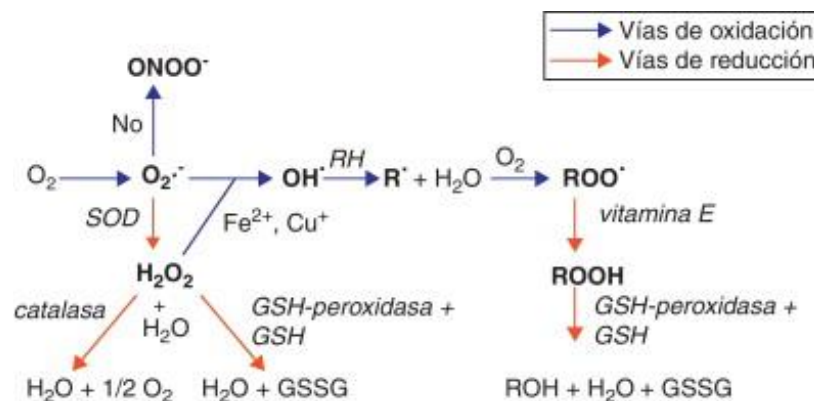
En cuanto a los antioxidantes enzimáticos, constituyen la primera línea de defensa que las microalgas poseen para combatir el estrés oxidativo. Estos antioxidantes descomponen y eliminan las ERO al convertir los productos del oxígeno reactivo en H_2O_2 , que posteriormente se convierte en H_2O . En este aspecto, la SOD es una poderosa enzima antioxidante que se encuentra principalmente en el citosol de las microalgas, aunque también está presente en los cloroplastos, las mitocondrias y los peroxisomas. Su función es convertir el O_2^- en H_2O_2 que es menos dañino y posteriormente este es catalizado por las enzimas CAT, GPX y APX (Cirulis y cols., 2013; Kanematsu y cols., 2010).

La CAT constituye uno de los antioxidantes más eficientes localizados típicamente en los peroxisomas, en el citosol celular y en las mitocondrias (Gauthier y cols., 2020). Tal es la potencia de la CAT que una sola molécula de CAT puede convertir millones de H_2O_2 en H_2O y O_2 en menos de un minuto (Gauthier y cols., 2020; Ighodaro y Akinloye, 2018). Con respecto a la GPX se ubica en mayor medida en el citosol de la célula, aunque

también se puede encontrar en las mitocondrias, en los cloroplastos y en el retículo endoplasmático (Gill y Tuteja, 2010). Esta enzima reduce el H_2O_2 a H_2O y a disulfuro de glutatión (Gauthier y cols., 2020; Viñas y cols., 2012). Por otra parte, la APX está presente especialmente en los cloroplastos y en el citosol celular y se caracteriza por tener una mayor afinidad con el H_2O_2 en comparación con la CAT, siendo crucial en la eliminación del H_2O_2 (Cirulis y cols., 2013). Esta enzima reduce el H_2O_2 produciendo H_2O y monodehidroascorbato (Gauthier y cols., 2020). En definitiva, todas estas enzimas antioxidantes trabajan colectivamente para prevenir la peroxidación lipídica y el daño celular de las microalgas (Levine y Fleurence, 2018).

Aunque las microalgas posean importantes concentraciones de estas enzimas, actualmente existen serias dificultades metodológicas para verificar *in vivo* que los efectos antioxidantes registrados tras el consumo de las microalgas se deben a sus enzimas antioxidantes. Aún faltan muchos datos sobre la bioaccesibilidad y la biodisponibilidad de estas enzimas, tras sufrir los procesos digestivos correspondientes, cuando son ingeridas a través de las microalgas (Coulombier y cols., 2021).

Figura 25. Representación esquemática de las principales especies reactivas de oxígeno y sus sistemas de detoxificación.



Representación esquemática en la que se observa las principales especies reactivas de oxígeno, así como sus sistemas de eliminación. Las flechas azules constituyen las reacciones de oxidación y generación de las ERO. Sin embargo, las flechas rojas representan las vías de reducción y eliminación de las ERO. El estrés oxidativo se genera cuando existe un desequilibrio en el balance de las dos vías. Tomado de Viñas y cols, 2012.

Otro tipo de compuesto de bajo peso molecular que producen las microalgas para controlar el estrés oxidativo es la fitoquelatina (FQ). Las FQ son oligopéptidos conformados por 2-11 residuos de aminoácidos sintetizados a partir del glutatión (GSH) y poseen un alto potencial antioxidante (Cirulis y cols., 2013). Las especies como

Stichococcus minor, *Geminella terrícola* y *Phaeodactylum tricornutum* contienen notables concentraciones de FQ (Kalinowska y Pawlik-Skowrońska, 2010; Morelli y Scarano, 2004). Hasta donde se conoce, no existen estudios que hayan comprobado el posible efecto antioxidante de las FQ en humanos y sería muy interesante poder verificarlo.

Los polisacáridos sulfatados liberados tras la digestión de las microalgas marinas pueden no solo funcionar como fibra dietética sino que también han demostrado la capacidad de prevenir la acumulación y la actividad de las ERO (Zhong y cols., 2019). Según Tannin-Spitz y cols. (2005) el polisacárido sulfatado de la microalga *Porphyidium* exhibió actividad antioxidante combatiendo la autooxidación del ácido linoleico e inhibió el daño oxidativo de las células 3T3 causado por el sulfato ferroso (FeSO_4) (Tannin-Spitz y cols., 2005). Estos autores demostraron que la actividad antioxidante dependía de la dosis utilizada del polisacárido sulfatado.

También, un exopolisacárido sulfatado de *Rhodella reticulata* ha demostrado tener actividad antioxidante dependiente de la dosis administrada, exhibiendo mayores propiedades antioxidantes en comparación con el polisacárido de *Porphyidium* (Chen y cols., 2010). En esta línea, los investigadores han establecido que los polisacáridos de *Rhodella reticulata* pueden poseer una mayor capacidad de eliminación de aniones superóxidos con respecto a la vitamina E, doblando incluso su efecto antioxidante (De Jesús y cols., 2013).

Como consecuencia de la composición y de los mecanismos de actuación de los polisacáridos, algunos autores sostienen que la actividad antioxidante de estas moléculas podría ser similar a la del glutatión (Fan y cols., 2009). Sin embargo, la biodisponibilidad de los polisacáridos de las microalgas en humanos es muy reducida, siendo un área de investigación muy desafiante a nivel metodológico, debido a la enorme complejidad de valorar *in vivo* los posibles efectos antioxidantes de estos compuestos (De Jesús y cols., 2013). Por ello, para aclarar los efectos antioxidantes de los polisacáridos sulfatados en humanos son necesarias más investigaciones.

Además, la mayoría de los estudios que han examinado si las moléculas antioxidantes que producen las microalgas podrían ser utilizadas como suplementos alimenticios, nutraceuticos o farmaceuticos en humanos han empleado un enfoque general aplicando algunas microalgas liofilizadas o extractos de las mismas a medios de cultivo de células

cancerosas de mamíferos o a la dieta de roedores con estrés oxidativo (Karawita y cols., 2007; Kwang y cols., 2008; Mizoguchi y cols., 2011; Nakashima y cols., 2009; Rao y cols., 2006; Saad y Yusof, 2006; Sheu y cols., 2010; Vijayavel y cols., 2007; Wang y cols., 2010). Estos trabajos iniciales han informado de forma alentadora sobre los posibles efectos beneficiosos de las microalgas sobre el estrés oxidativo.

En definitiva, la reducción del estrés oxidativo mediado por las microalgas puede ser producto de un efecto sumatorio de las enzimas antioxidantes, los pigmentos, las fitoquelatinas, los polisacáridos y ciertas vitaminas. Incluso existen otras moléculas en la composición de las microalgas como los AGPI que también pueden fomentar dichos efectos antioxidantes (Gammone y cols., 2018). Igualmente, sería de gran importancia determinar si existen mecanismos sinérgicos entre los anteriores elementos que influyan en la verificación de los posibles efectos antioxidantes de las microalgas en humanos. Sin embargo, hasta la fecha, los componentes bioquímicos de las microalgas que más efectos antioxidantes han demostrado *in vivo* son los carotenoides y algunas vitaminas (Coulombier y cols., 2021).

1.5.2.6. Efectos de las microalgas sobre el rendimiento físico-deportivo.

Estado del uso actual de las microalgas en el ámbito del rendimiento físico-deportivo.

Tras la comprensión de las bases del rendimiento físico-deportivo expuestas en la primera sección de este trabajo y del análisis de los potenciales efectos multisistémicos de las microalgas, es lógico pensar que los deportistas podrían beneficiarse de dichas interacciones mediante el consumo estratégico e individualizado de estos microorganismos (Koyande y cols., 2019). Aunque existan razones para especular que las microalgas pueden ocupar un lugar importante dentro del mundo de las ayudas ergogénicas deportivas, la realidad es que han sido muy poco investigadas en este ámbito. A pesar de que existen cientos de miles de especies de microalgas con potenciales beneficios fisiológicos, la investigación solo se ha centrado en unas pocas decenas de especies, aportando datos escasos y controvertidos en el área del rendimiento físico-deportivo.

La administración de suplementos nutricionales es una práctica normalizada en el ámbito del rendimiento físico-deportivo y es, a menudo, pautada por los preparadores físicos y los médicos deportivos. En este marco contextual se ubican las microalgas, cuyo

consumo se ha ido incrementando progresivamente en el deporte, debido a su contenido en péptidos y en otros componentes bioactivos (Gurney y Spendiff, 2022; Peeling y cols., 2018).

Como ya se ha descrito, no todas las microalgas poseen la misma composición bioquímica ni la misma biodisponibilidad de sus elementos. Por lo tanto, para elaborar una estrategia nutricional que pretenda maximizar el potencial ergogénico de las microalgas en el deporte, deberían tenerse en cuenta los siguientes aspectos básicos:

- Información taxonómica de la microalga empleada.
- Tipo de tratamiento, cultivo y envase de la microalga.
- Composición de la MEC de la microalga.
- Información de la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de sus componentes.
- Co-ingestión con otros compuestos bioquímicos.
- Disciplina deportiva.
- Características anatómo-fisiológicas del deportista.
- Momento de la temporada deportiva.

De este modo, en función de la predominancia de los compuestos bioquímicos presentes en las microalgas, se podrían desencadenar efectos fisiológicos diferentes que posean aplicabilidad en diversas disciplinas deportivas según sus exigencias fisiológicas-metabólicas. Por ello, para prescribir la suplementación con microalgas a los deportistas, sería esencial poseer un conocimiento en profundidad tanto de la disciplina deportiva y de la fisiología humana como de las características biológicas de la microalga prescrita. En este sentido, por ejemplo, las microalgas que albergan altos contenidos celulósicos en la MEC tienen menores tasas de bioaccesibilidad y de biodisponibilidad en sus componentes bioactivos por lo que sus elementos son peor aprovechados por el medio interno del deportista.

Sería interesante realizar más investigaciones en el futuro que permitan aclarar todas las interacciones fisiológicas derivadas del consumo de estos microorganismos, debido tanto a la gran variedad de especies y géneros de microalgas existentes en nuestro planeta como al desconocimiento de los mecanismos de acción que muchas de ellas poseen sobre el rendimiento físico-deportivo. Probablemente, dadas las particularidades bioquímicas de cada microalga y sus diferentes posibles mecanismos de acción, existan especies que se ajusten más a una disciplina deportiva concreta y a una fase de la periodización del

entrenamiento deportivo que otras microalgas, aunque estas pertenezcan al mismo género taxonómico. No obstante, como ya se ha detallado, es fundamental que haya más labores investigadoras para aclarar esta situación.

Efectos de las microalgas sobre el rendimiento físico-deportivo: bases farmacodinámicas.

En relación con lo descrito en el anterior apartado, muy pocas especies de microalgas se han investigado en el ámbito del rendimiento físico-deportivo. Entre ellas, las especies más destacadas son la *Chlorella vulgaris* y la *Spirulina* (Bagheri y cols., 2022; Nicoletti, 2016; Sandhu y cols., 2010). Los posibles efectos de las microalgas sobre el rendimiento físico-deportivo que se han registrado hasta la fecha se vinculan directamente con todos los procesos fisiológicos multisistémicos narrados en los anteriores apartados de este trabajo. Como es lógico, todos estos efectos pueden influir positivamente en los diversos factores que condicionan el rendimiento físico-deportivo de los atletas.

El potencial que poseen ciertas microalgas para estimular la hematopoyesis podría elevar diversos parámetros ergoespirométricos relacionados con el consumo de oxígeno tisular y con el sistema inmune. Se ha verificado que la *Spirulina* puede inducir un aumento de los valores del $VO_{2\text{ max}}$ y el $VO_{2\text{ max/kg}}$, lo cual concuerda con los posibles efectos eritropoyéticos anteriormente descritos de las microalgas (Gurney y Spendiff, 2020). En este aspecto, algunos componentes bioactivos de la *Spirulina*, como las ficocianinas, podrían poseer la capacidad de aumentar el pulso del O_2 y de la hemoglobina en el organismo humano (Zhang, 1994). También se ha informado de que la suplementación con 4,5 g diarios de *Spirulina* en personas con sobrepeso puede incrementar los valores de $VO_{2/kg}$ incluso sin realizar ningún tipo de entrenamiento específico (Hernández-Lepe y cols., 2018). Otros estudios con *Chlorella vulgaris* han informado sobre aumentos del $VO_{2\text{ max}}$ en individuos jóvenes tras un período de suplementación de 4 semanas (Umemoto y Otsuki, 2014).

Cabe resaltar que la óptima asimilación fisiológica y la alta biodisponibilidad del hierro de la *Spirulina*, principalmente debido a la ausencia de fitatos, oxalatos y a las características de su MEC, ha dado como resultado trabajos académicos en los que se informa de varias tendencias hematopoyéticas positivas de la *Spirulina* (Gurney y cols., 2021; Gurney y Spendiff, 2020; Kelkar y cols., 2017; Milasius y cols., 2009; Selmi y cols., 2011; Mani y cols., 2000). La forma en que esto podría influir en el rendimiento

físico-deportivo, ciertamente, merece más atención. No obstante, aún debe confirmarse el mecanismo exacto por el que la *Spirulina* causa estos efectos, particularmente los eritropoyéticos. Además de las posibles funciones eritropoyéticas de las ficocianinas y del alto contenido en hierro de la *Spirulina*, algunos autores han sugerido que la concentración de nitratos presentes en esta microalga podría estimular la contracción del bazo, que constituye un reservorio dinámico de hematíes, elevando los valores de la serie roja sanguínea (Espersen y cols., 2002). En consonancia con lo anterior, en publicaciones recientes se ha evidenciado que la suplementación con 5 mmol de nitrato puede elevar la hemoglobina circulatoria hasta en un 3% a través de la contracción esplénica (Engan y cols., 2020).

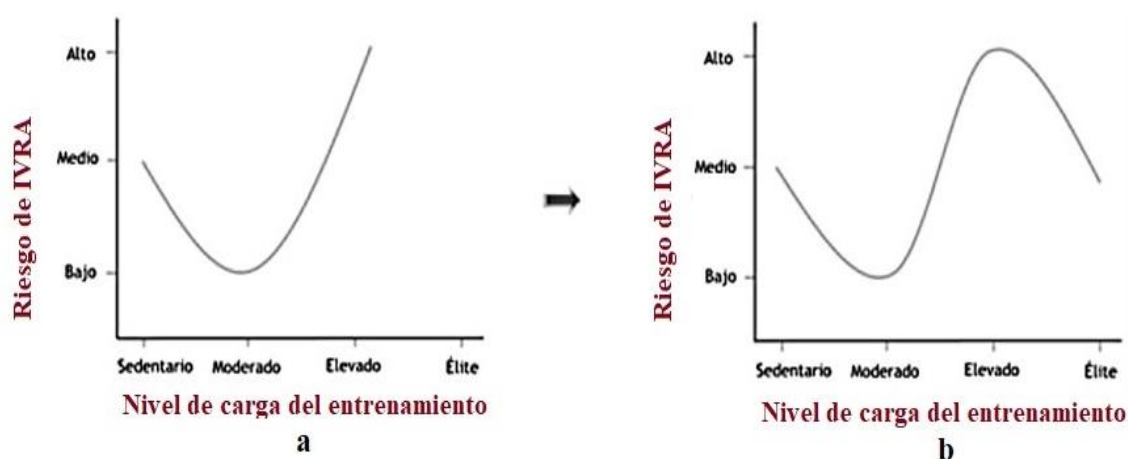
Considerando lo anteriormente expuesto, así como la alta biodisponibilidad del hierro contenido en la *Spirulina*, dicha microalga podría resultar especialmente eficaz en la salud y en el rendimiento físico-deportivo de la comunidad atlética femenina, debido a las altas prevalencias de anemias que existen en esta comunidad (Niang y cols., 2017; Portal y cols., 2003).

Además, ha sido ampliamente demostrado que el ejercicio puede inducir cambios inmunológicos detectables que implican una supresión inmune transitoria (Gani y cols., 2003). Una de las posibles explicaciones de este hecho radica en el aumento de la secreción de cortisol y de catecolaminas, así como en los decrementos de las concentraciones plasmáticas de glucosa y de aminoácidos que se producen durante el ejercicio físico (Chicharro y López, 2006). Generalmente, se ha observado que tras el ejercicio moderado ocurren cambios positivos en las poblaciones de linfocitos y de otras células inmunes. Sin embargo, esta acción favorable del ejercicio sobre el sistema inmunológico no se produce después de un estrés muy intenso o duradero (Cicchella y cols., 2021). Se ha demostrado que el ejercicio prolongado y agotador reduce el número de células T y su capacidad para secretar IFN γ (Cox y Pyne, 2014). Además, el entrenamiento intensivo se ha asociado con una mayor producción de citocinas antiinflamatorias con poder inmunosupresor, como la IL-10 (Cox y Pyne, 2014; Shaw y cols., 2018).

Esta situación ha llevado a la formulación de la teoría de la “ventana abierta”, que se describe como un aumento del riesgo de infecciones microbianas durante las 9 horas posteriores a realizar un ejercicio físico extenuante y prolongado (Nieman, 1995). Mientras dure el período de “ventana abierta” se debe recomendar a los atletas que sean

conscientes de ello y que permanezcan aislados de las posibles fuentes de infección. En este sentido, Shepard y cols (1999) propusieron que los procesos de inmunosupresión tras el ejercicio se podían representar con una curva en forma de J en función de la intensidad del esfuerzo físico, correspondiéndose los esfuerzos más intensos con las mayores probabilidades de padecer infecciones del tracto respiratorio (Shephard y Shek, 2015). No obstante, más tarde se propuso otra gráfica con forma de “S” en la que se contempla que los individuos muy entrenados poseen menores probabilidades de sufrir infecciones debido a las potentes adaptaciones de su sistema inmunológico inducidas por el alto nivel de entrenamiento físico (Díaz y cols., 2021).

Figura 26. Representación gráfica de la evolución del riesgo de padecer una infección de las vías respiratorias altas (IVRA) en función de la carga del entrenamiento.



Representación gráfica en la que se muestran los dos modelos que explican la evolución del riesgo de padecer IVRA en función de la carga de entrenamiento. En un primer momento se estableció la curva en “J” (a). Sin embargo, posteriormente se ha propuesto la curva en “S” (b) que tiene en consideración las adaptaciones inmunofisiológicas de los individuos muy entrenados. Tomado de Aguilar, 2021.

En relación con lo anterior, se han reportado aumentos del riesgo de infecciones del tracto respiratorio de hasta 6 veces superiores tras un esfuerzo físico extenuante en comparación con un ejercicio físico leve-moderado (Nieman y cols., 1990). Curiosamente, Van Tonder y cols. (2016) demostraron en un estudio prospectivo de cohortes compuesto por 7031 corredores de fondo que 1 de cada 13 participantes informaron síntomas sistémicos de enfermedad aguda en el período de 8 a 12 días antes de la competición, observando que los atletas que corrían más de 96 km semanales duplicaban sus probabilidades de enfermedad en comparación con los que corrían menos de 32 km semanales (Cicchella y cols., 2021; Van Tonder y cols., 2016). Como es natural, estas afecciones pueden mermar el rendimiento físico-deportivo disminuyendo

considerablemente la capacidad de recuperación fisiológica de los deportistas (Cicchella y cols., 2021). Por lo tanto, el potencial inmunomodulador de las microalgas, ya expuesto, podría favorecer las acciones del sistema inmune combatiendo el efecto inmunosupresor del ejercicio físico extenuante (Samarakoon y Jeon, 2012).

Los posibles efectos sobre el sistema endocrinológico mediados por las microalgas, también podrían guardar relación con el rendimiento físico-deportivo. El posible entorno hormonal de carácter anabólico generado por los diversos componentes bioactivos de las microalgas podría favorecer los procesos de síntesis proteica, y por ende, promover los mecanismos de regeneración tisulares requeridos para la recuperación de los deportistas tras los entrenamientos o las competiciones deportivas (Raja y Hemaiswarya, 2010; Azlan y cols., 2019). De este modo, se favorecerían tanto los sistemas supercompensatorios fisiológicos como los tiempos y la calidad de la recuperación de los atletas. Estos posibles efectos coinciden con los hallazgos de diferentes trabajos, donde se comprueba que la suplementación con *Spirulina* y *Chlorella vulgaris* disminuyen las alteraciones tisulares originadas por el ejercicio físico extenuante facilitándose la recuperación y las respuestas supercompensatorias (An y cols., 2006; Brito y cols., 2020).

Por otra parte, el ejercicio físico aumenta la producción de radicales libres como consecuencia de la elevación de la oxigenación de los tejidos pues tanto la intensidad como la duración del ejercicio son variables determinantes que influyen directamente en la producción de las ERO (Cubrilo y cols., 2011). Además, existe un sólido cuerpo de evidencias científicas que demuestra que las ERO poseen un rol principal en la inflamación y el daño muscular tras el ejercicio intenso (Aoi y cols., 2004).

Parece ser, que la producción de ERO durante el ejercicio puede ser debida al aumento del flujo electrónico en la cadena de transporte mitocondrial, así como al incremento del VO_2 en la mitocondria (Meo y Venditti, 2001). Esto concuerda con los mayores incrementos de los marcadores de peroxidación lipídica tras la realización de ejercicios extenuantes o de altos volúmenes, en comparación con esfuerzos menos intensos y duraderos (Gowder, 2015). No obstante, la elevación de los niveles oxidativos durante el ejercicio provoca respuestas adaptativas de los diversos tejidos y de los sistemas antioxidantes que pueden llegar a aumentar sus concentraciones tisulares y sus eficiencias enzimáticas a través del entrenamiento periodizado y monitorizado (Gomez-Cabrera y cols., 2015; Gowder, 2015). Esto conduciría a un estado fisiológico de hormesis (Radak y cols., 2017). Por ello, las alteraciones biológicas originadas por las ERO

también son necesarias para crear respuestas supercompensatorias, involucrándose en gran cantidad de rutas de bioseñalización (Higashida y cols., 2011).

Según lo anterior, los entrenamientos y las competiciones deportivas de larga duración o de alta intensidad pueden conllevar elevados niveles de estrés oxidativo (Santos-Silva y cols., 2001). Esto aumenta los riesgos siguientes: el incremento del daño tisular, la disminución de la capacidad de recuperación de los deportistas y, en consecuencia, la reducción del rendimiento físico-deportivo (Gowder, 2015). El estrés oxidativo inducido por el ejercicio puede ser minimizado a través de diferentes estrategias nutricionales que se basan en la ingesta de antioxidantes a través de la dieta, como la vitamina E o los beta-carotenos (Coulombier y cols., 2021; Storniolo y cols., 2019). Por ello, las microalgas podrían proteger a los atletas de los daños fisiológicos producidos por las altas tasas de estrés oxidativo a las que están expuestos debido a sus potenciales propiedades antioxidantes (Coulombier y cols., 2021).

Se ha observado que el uso de la *Spirulina platensis* en el contexto del entrenamiento físico de alta intensidad es eficaz para reducir el estrés oxidativo y la inflamación inducida por el ejercicio (Brito y cols., 2020; Wu y cols., 2016). Además, es importante destacar que el uso de esta microalga no provoca inhibiciones de las adaptaciones fisiológicas positivas provocadas por el entrenamiento físico, hecho ya comprobado con algunos suplementos como la vitamina C, la vitamina E y el resveratrol (Brito y cols., 2020). Por otra parte, la suplementación con *Chlorella vulgaris* ha demostrado que disminuye las concentraciones de malondialdehído, marcador esencial de la peroxidación lipídica, tras el ejercicio extenuante (Tofighi y cols., 2021).

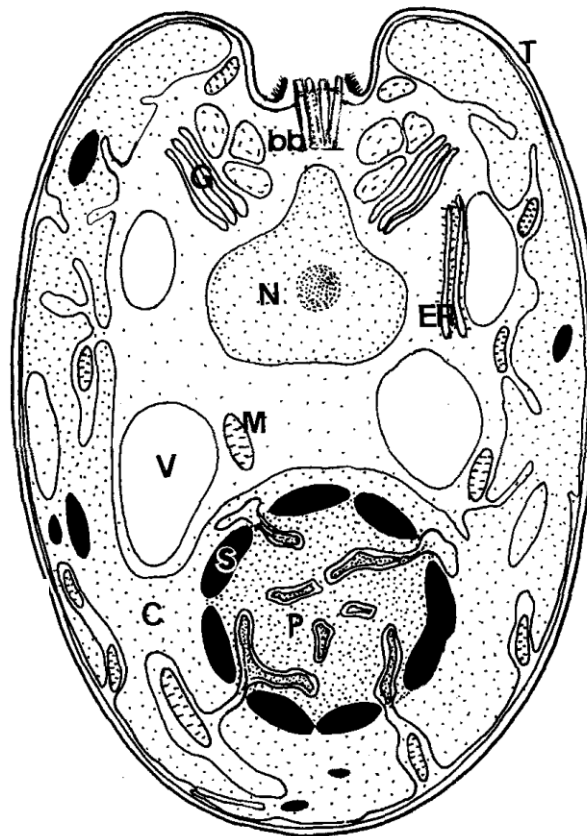
En conclusión, las microalgas merecen más atención en el campo de la fisiología del ejercicio, requiriéndose aclaraciones precisas que establezcan si los posibles efectos ergogénicos de las microalgas podrían deberse a otras mejoras en las deficiencias y/o estados nutricionales, a los mecanismos de acción ejercidos por sus componentes bioactivos o a una combinación de ambos.

1.6. TETRASELMIS CHUII: CARACTERÍSTICAS, COMPOSICIÓN BIOQUÍMICA Y ESTADO ACTUAL.

1.6.1. Características taxonómicas y bioquímicas generales de la *Tetraselmis chuii*.

El género *Tetraselmis* (Chlorophyta, Chlorodendrophyceae) incluye a especies unicelulares flageladas de morfología elíptica con capacidad de movimiento otorgada por la presencia de 4 flagelos idénticos. Estas especies tienen una gran capacidad de supervivencia pues pueden sobrevivir tanto en hábitats marinos/eurihalinos como en los de agua dulce (Hori y cols, 1982; Levine y Fleurence, 2018, Sharp y cols, 2020)

Figura 27. Representación gráfica de la ultraestructura celular de una microalga de *Tetraselmis spp.*



Representación gráfica en la que se observan los diferentes elementos celulares de *Tetraselmis spp.* N: núcleo; G: aparato de Golgi; V: vacuola; P: matriz pirenoide; ER: retículo endoplasmático; M: mitocondria; C: cloroplasto; T: teca o matriz extracelular. Tomado de Hori y cols, 1982.

La composición bioquímica de las microalgas del género *Tetraselmis* posee diversas variaciones en función de la especie de microalga y sus condiciones de crecimiento y cultivo. Generalmente, el contenido proteico oscila entre el 35% y el 40% del peso seco,

incluyendo todos los aminoácidos esenciales. Los lípidos totales varían entre el 5% y el 14% del peso seco. Igualmente, los carbohidratos suelen constituir entre el 30% y el 35% del peso seco de estas especies (Mantecón y cols, 2019; Levine y Fleurence, 2018).

En la década de los 50, la *Tetraselmis chuii* (TC) fue aislada por primera vez en las costas de Gran Bretaña. Mas tarde, en diversas partes del mundo se han interesado por su aislamiento, especialmente para su uso en la industria acuícola (Mantecón y cols, 2019). Las cepas de *Tetraselmis chuii* son especialmente ricas en AGPI, DHA y EPA, así como en diferentes carotenoides (Sharp y cols, 2020; Levine y Fleurence, 2018; Mantecón y cols 2019). Por ello, esta microalga se considera como una fuente prometedora de potentes antioxidantes.

En consonancia con lo anterior, varias empresas europeas están produciendo biomasa de *Tetraselmis* para su uso en la acuicultura. Además, la empresa española “Fitoplancton Marino S.L.” obtuvo en 2013 la autorización para comercializar la *Tetraselmis chuii* en la Unión Europea como complemento alimenticio humano. Posteriormente, en 2016, bajo el nombre comercial de TetraSOD[®], se comenzó la distribución de la *Tetraselmis chuii* como producto apto para el consumo humano siendo todo este proceso avalado por la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN).

1.6.2. Composición bioquímica de la *Tetraselmis chuii*.

La composición bioquímica de las cepas de *Tetraselmis chuii* puede variar considerablemente en función de su ubicación, así como de sus condiciones de crecimiento y cultivo. A continuación, para llevar a cabo el análisis bioquímico de esta microalga, solo se tienen en consideración los datos aportados por la AECOSAN, resultantes de la evaluación de tres lotes de TC producidos industrialmente por la empresa Fitoplacton Marino S.L. (TetraSOD[®]). Este suplemento es un liofilizado de TC y ha sido el elegido para desarrollar la investigación de la presente tesis doctoral.

La TC posee un privilegiado contenido en carbohidratos, proteínas y minerales. Las proteínas de TC incluyen todos los aminoácidos esenciales. Los aminoácidos más abundantes en su composición son la leucina, el ácido glutámico y el ácido aspártico. Sin embargo, las proteínas de TC no contienen asparagina, prolina, cisteína y glutamina. Con relación a las grasas constituyen el 6,7% del peso total del liofilizado de TC y casi la mitad del contenido lipídico es representado por los AGPI. Entre ellos, el ácido linoléico

es el más abundante. Con respecto a los carbohidratos, estos representan aproximadamente el 31,6% de la TC.

Con respecto a los minerales, el calcio es el componente más presente en el liofilizado pero los cloruros y el sodio también representan elementos muy abundantes en la TC. En cuanto a las vitaminas, la vitamina B12 es la que mayores concentraciones posee en el liofilizado con un valor de 230,2 µg cada 100 gramos, lo cual supera con creces las cantidades diarias de ingesta recomendada de vitamina B12 en adultos, establecida en 2,4 µg. Además, las vitaminas C y E también se encuentran en concentraciones notables, adquiriendo un valor de 333,3 mg y 52,0 mg cada 100g de liofilizado, respectivamente.

Con relación a los parámetros de estrés oxidativo, el liofilizado de TC ha mostrado poseer actividades considerables de la SOD, alcanzando valores de 30.000 U/g, así como una importante capacidad de absorción de ERO, con niveles de 34.300 µmol TE/100g.

También, TetraSOD[®] destaca por su contenido en clorofila A con concentraciones de 11,22 µg/mg. En este liofilizado de TC no se han analizado otros pigmentos importantes, como los carotenoides. No obstante, se ha constatado que las cepas de *Tetraselmis chuii* son muy ricas en carotenoides y en compuestos fenólicos. Además, existe constancia de la presencia de aldeídos poliinsaturados (API) en otros liofilizados de TC. Los API forman parte de las denominadas oxilipinas vegetales. Estas moléculas se describieron por primera vez en las diatomeas y se ha propuesto que cumplen varias funciones biológicas importantes como la bioseñalización celular y la actividad antibacteriana. Incluso, algunos autores han establecido que los API podrían tener cierto potencial anticancerígeno.

A continuación, mediante una serie de tablas se detallan con mayor precisión los componentes bioquímicos del liofilizado de TC empleado en esta tesis doctoral, cuyos datos han sido proporcionados por la empresa Fitoplacton Marino S.L. y la AECOSAN. Todos los datos presentes en las tablas se expresan como la media ± la desviación típica.

Tabla 4. Composición bioquímica general del liofilizado de TC procedente de la empresa Fitoplacton Marino S.L.

Determinación	Resultado por cada 100 g del producto
Humedad (%)	6,3 ± 0,02
Proteínas (%)	37,6 ± 0,40
Cenizas (%)	15,5 ± 0,05
Hidratos de carbono (%)	31,6 ± 0,38
Fibra alimentaria (%)	2,3 ± 0,00
Grasas (%)	6,7 ± 0,25
Kcal/100g	337 ± 1,35

Tabla obtenida del informe emitido por AESAN, 2013 en relación a la evaluación de tres lotes de liofilizado de TC proporcionado por la empresa Fitoplacton Marino S.L. Los datos se encuentran expresados como la media de los tres lotes ± la desviación típica.

Tabla 5. Aminograma del liofilizado de TC procedente de la empresa Fitoplacton Marino S.L.

Determinación	Resultado (% de proteína)
Valina	2,27 ± 0,12
Triptófano	0,61 ± 0,01
Treonina	1,81 ± 0,13
Tirosina	1,38 ± 0,15
Serina	1,63 ± 0,09
Metionina	0,87 ± 0,12
Lisina	2,03 ± 0,15
Leucina	3,08 ± 0,09
Isoleucina	1,57 ± 0,11
Histidina	0,65 ± 0,13
Glicina	2,25 ± 0,14
Fenilalanina	1,95 ± 0,07
Arginina	2,66 ± 0,09
Alanina	2,79 ± 0,17
Ácido glutámico	4,67 ± 0,12

Tabla obtenida del informe emitido por AESAN, 2013 en relación a la evaluación de tres lotes de liofilizado de TC proporcionado por la empresa Fitoplacton Marino S.L. Los datos se encuentran expresados como la media de los tres lotes ± la desviación típica.

Tabla 6. Composición mineral del liofilizado de TC procedente de la empresa Fitoplacton Marino S.L.

Determinación	Resultado (mg/g)
Calcio	33,80 ± 0,26
Magnesio	5,06 ± 0,09
Hierro	2,01 ± 0,04
Fósforo	6,27 ± 1,87
Sodio	14,33 ± 4,16
Potasio	10,40 ± 0,56
Cloruros	17,77 ± 0,25
Cobre	0,006 ± 0,00
Yodo	5,03 ± 5,78

Tabla obtenida del informe emitido por AESAN, 2013 en relación a la evaluación de tres lotes de liofilizado de TC proporcionado por la empresa Fitoplacton Marino S.L. Los datos se encuentran expresados como la media de los tres lotes ± la desviación típica.

Tabla 7. Composición de ácidos grasos del liofilizado de TC procedente de la empresa Fitoplacton Marino S.L.

Determinación	Resultado (% grasa)
Saturados	30,27 ± 0,50
Monoinsaturados	22,97 ± 0,90
Poliinsaturados	46,77 ± 1,36

Tabla obtenida del informe emitido por AESAN, 2013 en relación a la evaluación de tres lotes de liofilizado de TC proporcionado por la empresa Fitoplacton Marino S.L. Los datos se encuentran expresados como la media de los tres lotes ± la desviación típica.

Tabla 8. Composición vitamínica del liofilizado de TC procedente de la empresa Fitoplacton Marino S.L.

Vitaminas	Resultado.
B 1	1,04 mg/100g
B 6	1,20 mg/100g
B 12	230,3 µg/100g
E	52,0 mg/100g
C	333,3 mg/100g

Tabla realizada mediante los datos proporcionados por Fitoplacton Marino S.L

Tabla 9. Porcentaje del perfil de ácidos grasos del liofilizado de TC procedente de la empresa Fitoplacton Marino S.L.

Determinación	Resultado (% ácidos grasos totales)
16:0 Palmítico	26 %
18:1- ω 9 Oleico	18 %
18:2- ω 6 Linoleico	4 %
18:3- ω 3 alfa linolenico	19 %
20:5- ω 3 EPA	13 %
Otros	20 %

Tabla realizada mediante los datos proporcionados por Fitoplacton Marino S.L.

1.6.3. Evidencias actuales sobre el uso de *Tetraselmis chuii* en seres humanos.

Aunque la TC posea una composición bioquímica interesante con potenciales aplicaciones, la realidad es que, como anteriormente se mencionó, el consumo en humanos de esta microalga se ha aprobado muy recientemente. Desde el año 2016 en que se registró como complemento alimenticio, las evidencias sobre el efecto del consumo de TC en humanos son prácticamente inexistentes. Hasta donde se sabe, solo existen dos trabajos que han valorado la ingesta de TC *in vivo* en humanos.

Una de estas investigaciones ha sido llevada a cabo por Shaarp y cols. (2020), que mediante un estudio a doble ciego concluyeron que la suplementación diaria con 25 mg de TC en humanos puede mejorar la recuperación, mantener la potencia y prevenir la disminución de la fuerza durante el ejercicio de resistencia aeróbica. Además, estos mismos autores, verificaron en ratas que 2,55 mg/kg y 5,1 mg/kg de TC diarios administrados por vía oral puede mejorar la capacidad antioxidante intramuscular cuando se combina con ejercicio físico (Sharp y cols., 2020).

Un segundo trabajo realizado por Toro y cols (2020), perteneciente a nuestro grupo de investigación, evidenció mediante un ensayo aleatorizado a doble ciego que la suplementación diaria con 25 mg de TC durante treinta días podría modificar los parámetros ergoespirométricos y hematológicos analizados en futbolistas aficionados. En esta investigación se han observado interesantes hallazgos. Entre ellos, hay que destacar los aumentos significativos ($p < 0,05$) de las concentraciones de hemoglobina sanguínea y de los valores del consumo máximo de oxígeno en el grupo de futbolistas suplementados con TC. Aunque estos resultados hayan sido preliminares, ya se ha sugerido que la TC podría constituir una ayuda ergogénica alternativa para los atletas. En

este aspecto, se han atribuido las mejoras ergoespirométricas a los posibles efectos hematológicos inducidos por la TC. También, cabe destacar que no se ha detectado ninguna actividad tóxica que pueda estar asociada al consumo de TC, lo cual confirma su bioseguridad (Toro y cols, 2020).

Tras la realización del anterior trabajo citado, las razones fisiológicas que explican los cambios ergoespirométricos y hematológicos después de la suplementación con TC siguen sin comprenderse bien. En este contexto nace la presente tesis doctoral con la finalidad de esclarecer algunos de los mecanismos de acción de la TC y completar los resultados obtenidos en nuestro anterior trabajo. Por lo tanto, la necesidad de esta investigación se justifica por el enorme déficit científico que posee el estudio de los posibles efectos fisiológicos de la ingesta de la TC en humanos y, más concretamente, en el ámbito del rendimiento deportivo, donde la privilegiada composición bioquímica de esta microalga podría revelar mecanismos ergogénicos importantes que aún no han sido descritos.

1.7. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

Hipótesis de la investigación.

Todas las evidencias detalladas durante el transcurso de este trabajo han permitido establecer la hipótesis de que *la suplementación con TC podría generar un ambiente fisiológico que mejore el rendimiento físico-deportivo.*

Objetivos de la investigación.

De este modo, el objetivo general de la presente tesis doctoral es valorar los efectos fisiológicos de un programa de suplementación con diferentes dosis de TC durante dos meses sobre diferentes parámetros ergoespirométricos, hematológicos, bioquímicos, endocrinológicos, antropométricos y otros relacionados con la condición física en individuos varones sanos. Por lo tanto, para mejorar la comprensión de los resultados y optimizar la organización de la discusión de los mismos, este objetivo general se ha dividido en estos 3 objetivos específicos:

- Objetivo específico número 1. Evaluar los efectos de la suplementación con TC durante dos meses sobre las variables bioquímicas en individuos varones sanos.
- Objetivo específico número 2. Evaluar los efectos de la suplementación con TC durante dos meses sobre los parámetros de condición física, ergoespirométricos y la composición corporal en individuos varones sanos.
- Objetivo específico número 3. Evaluar los efectos de la suplementación con TC durante dos meses sobre el hemograma y las diversas hormonas en individuos varones sanos.
- Objetivo específico número 4. Evaluar qué dosis de TC empleada es la más efectiva.

El primer objetivo se vincula estrechamente con el control de la toxicidad y el metabolismo lipídico de los individuos durante el periodo de suplementación con TC. El segundo objetivo guarda relación directa con la valoración del rendimiento físico-deportivo. La consecución del tercer objetivo podría explicar algunos de los mecanismos de acción que medien los posibles efectos anteriores y, por último, el cuarto objetivo podría indicar las dosis de ingesta oral de TC que son más adecuadas para alcanzar los máximos efectos fisiológicos en humanos.

Para contrastar la hipótesis planteada y verificar la consecución de los objetivos establecidos se han implementado diferentes técnicas metodológicas que se detallan en profundidad durante el apartado siguiente.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL AND METHODS

2. MATERIAL Y MÉTODOS.

2.1. GENERALIDADES DE LA INTERVENCIÓN.

Una vez contextualizados los principios fisiológicos del uso de las microalgas en el ámbito del rendimiento deportivo, así como las diferentes generalidades acerca de su taxonomía y los variados mecanismos de acción en el organismo humano, se ha considerado esencial tratar los fundamentos metodológicos en los que se sostiene el presente trabajo. En los próximos subapartados se detallan las generalidades metodológicas de esta investigación.

2.1.1. PROTOCOLO GENERAL DE EXPERIMENTACIÓN.

Este punto aborda las características generales de la intervención con la finalidad de mejorar la comprensión del diseño experimental que se ha empleado en el desarrollo del presente trabajo.

El protocolo experimental de este trabajo se ha diseñado en relación con los objetivos previamente planteados. La experimentación se desarrolló mediante un diseño a doble ciego dividiéndose los participantes en 3 grupos (un grupo placebo y dos grupos experimentales que ingirieron un suplemento compuesto por TC con distintas dosificaciones).

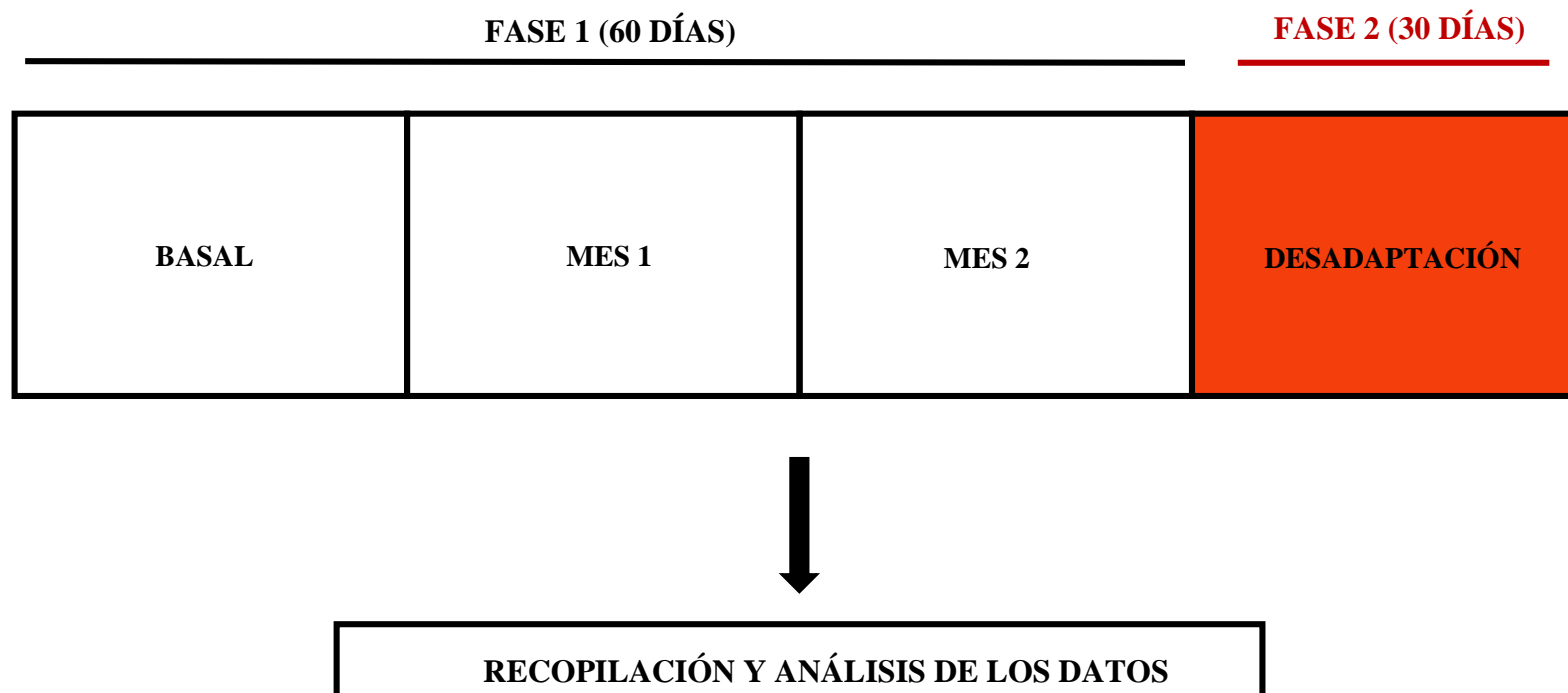
El período experimental de esta investigación se organizó en dos grandes fases: fase 1 o de ingesta en la que los participantes ingirieron el suplemento de TC o la cápsula de placebo diariamente (según el grupo al que pertenecieran) durante 60 días y la fase 2 o de desadaptación que consistió en la supresión de la ingesta de TC o el placebo durante 30 días.

Con el objetivo de valorar los posibles efectos de la suplementación con TC en el organismo de los participantes, a lo largo de las fases citadas anteriormente se implementó una serie de evaluaciones fisiológicas, que se detallan en los próximos apartados. Las valoraciones fueron realizadas al inicio de la intervención (antes de comenzar el protocolo de suplementación) y, sucesivamente, cada 30 días hasta finalizar la intervención.

Por lo tanto, el período experimental tuvo una duración total de noventa días durante los que se incluyeron cuatro días diferentes de valoraciones: basal, al primer mes (mes 1), al segundo mes (mes 2) y la desadaptación.

Tras la recopilación de los datos que aportaron las diferentes valoraciones se procedió a su posterior análisis estadístico e interpretación de los resultados.

Figura 28. Esquema general del diseño correspondiente con el protocolo experimental de la intervención.



2.1.2. COMPROMISO BIOÉTICO

Antes del inicio del presente trabajo, el proyecto de intervención fue aceptado por el comité de Bioética de la Universidad de Extremadura (Anexo I). Tras este consentimiento se elaboró el diseño de investigación y se procedió al reclutamiento de los participantes.

Este trabajo se llevó a cabo bajo las directrices éticas de la Declaración de Helsinki, actualizados en la Asamblea Médica Mundial de Fortaleza (Brasil) en 2013 para la investigación con seres humanos.

Los participantes tenían la posibilidad de desvincularse de la investigación en cualquier momento del período experimental pues su participación era completamente voluntaria. Cabe destacar que todos los individuos fueron informados del propósito del estudio, así como de todos los procedimientos que se iban a realizar en cada una de las fases de la intervención, constituyendo un requisito básico para participar en el estudio la firma y la lectura voluntaria del consentimiento informado (Anexo II).

Se estableció el compromiso de confidencialidad con los participantes mediante la asignación de códigos alfa-numéricos con el fin de recolectar las muestras y tratar los datos de forma anónima.

2.1.3. PROTOCOLOS BÁSICOS DE SEGURIDAD.

Reconocimiento médico basal.

Antes del comienzo de la investigación, los participantes tuvieron que ser valorados por un médico especializado en el ámbito de la fisiología del ejercicio. Se realizó una exploración física general de los diferentes sistemas fisiológicos a través de palpación, auscultación con fonendoscopio (Clasic II S.E., 3M Littman, Madrid) y una evaluación electrocardiográfica (BTL 08 SD6, BTL, República Checa) en reposo y en posición decúbito supino. Igualmente, se comprobó que ninguno de los participantes presentase posibles hipersensibilidades a las diferentes sustancias contenidas en los compuestos ingeridos. Tras comprobar que los participantes estaban sanos y que no existía ningún tipo de contraindicación para llevar a cabo esta investigación, se aleatorizó la muestra en los distintos grupos de estudio.

Protocolo de seguridad durante la prueba ergoespirométrica máxima

Todas las pruebas se desarrollaron en condiciones ambientales similares según los siguientes parámetros:

- 21 – 24° C.
- 45 – 55% de humedad relativa.
- 700 – 715 mmHg de presión atmosférica.

Durante el desarrollo de la prueba siempre estuvo presente un médico. Además, durante el protocolo se implementó un registro electrocardiográfico (BTL 08 SD6, BTL, República Checa) con la finalidad de detectar cualquier anomalía en los sistemas excito-conductores cardíacos que pudiera suponer una contraindicación para las posteriores valoraciones o durante la misma evaluación.

Tras realizar el protocolo de esfuerzo, los participantes permanecieron parados y en bipedestación sobre el tapiz rodante durante 3 minutos. En este intervalo temporal se siguieron registrando los diferentes valores ergoespirométricos, electrocardiográficos y se monitorizaron las presiones arteriales. Esta fase se denominó fase de recuperación.

Durante el protocolo de esfuerzo se desarrollaron estos dos estándares de seguridad primordiales:

- Los participantes podían interrumpir el protocolo de esfuerzo de forma voluntaria por cualquier motivo, independientemente de la existencia de alteraciones fisiopatológicas durante la prueba.
- En caso de registrar cualquier anomalía electrocardiográfica, el protocolo de esfuerzo se paralizaba de forma inmediata.

En caso de darse cualquiera de estas situaciones, los participantes tendrían que ser valorados y atendidos por el médico.

Protocolo de seguridad en la valoración de la fuerza isométrica máxima.

La totalidad de las valoraciones de la fuerza muscular se individualizaron a las características anatómo-fisiológicas de cada participante. Los diferentes requisitos de seguridad que se llevaron a cabo fueron los siguientes:

- Antes de comenzar la valoración de la fuerza los participantes realizaron un calentamiento específico del test que efectuaban.

- El protocolo de evaluación fue interrumpido ante la aparición de cualquier tipo de dolor o molestia.

Protocolo de familiarización

Antes de comenzar la intervención, los participantes visitaron el laboratorio con la finalidad de conocer in situ los protocolos, herramientas, investigadores e instalaciones. Durante esta visita los individuos llevaron a cabo el reconocimiento médico y completaron el cuestionario IPAQ para verificar si existían diferencias interindividuales en los niveles de actividad física iniciales (Lee y cols., 2011).

2.1.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN DE LOS PARTICIPANTES

Todos los participantes seleccionados para llevar a cabo esta investigación eran estudiantes universitarios de la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte de la Universidad de Extremadura.

A continuación, se detallan los distintos criterios de inclusión que los individuos debían cumplir para poder participar en esta intervención:

- Ser varón sano y obtener un resultado favorable en el reconocimiento médico inicial.
- No padecer ninguna lesión músculo-tendinosa que pudiera repercutir sobre las diferentes valoraciones de esfuerzo que se realizaron en las diferentes fases del periodo experimental.
- Tener una edad comprendida entre 20 y 22 años.
- No ser fumador.
- No ser consumidor de alcohol ni de ningún tipo de estupefaciente que pudiera interferir en los resultados.
- Poseer un nivel de actividad física bajo-moderado validado por el cuestionario IPAQ al inicio de la investigación.
- No variar los hábitos nutricionales ni de actividad física durante el período experimental.
- No haber utilizado ningún tipo de suplementación nutricional al menos 6 meses antes de la intervención.
- No tener alteraciones hematológicas.

- No consumir ningún tipo de suplemento alimenticio durante el período experimental.

2.1.5. PARTICIPANTES

Para el desarrollo de esta investigación se reclutó un total de cuarenta y seis participantes. Posteriormente, se realizó un muestreo aleatorio de los individuos en tres grupos diferentes: Grupo Placebo (GP; $n = 16$), Grupo Suplementado con 25 mg de TC (GS 25; $n = 15$) y Grupo Suplementado con 200 mg de TC (GS 200; $n = 15$) cuyas características basales se resumen en la tabla siguiente, expresadas como la media \pm desviación típica.

Tabla 10. Caracterización basal de la muestra.

	Evaluación	GP ($n = 16$)	GS 25 ($n = 15$)	GS 200 ($n = 15$)
Peso (kg)	Basal	72,14 \pm 7,18	71,28 \pm 8,26	72,29 \pm 11,13
Altura (m)	Basal	1,76 \pm 0,07	1,76 \pm 0,05	1,77 \pm 0,07
Porcentaje Graso (%)	Basal	12,84 \pm 2,11	12,98 \pm 2,34	13,40 \pm 3,65
Porcentaje Muscular (%)	Basal	47,82 \pm 2,75	47,39 \pm 2,50	47,12 \pm 2,56

2.1.6. PROTOCOLO EXPERIMENTAL DE SUPLEMENTACIÓN

Según la línea conceptual del apartado 2.1.1, la investigación se desarrolló mediante un diseño a doble ciego. Los participantes pertenecientes al GS 25 y al GS 200 ingirieron una cápsula de 25 mg y 200 mg, respectivamente, del liofilizado de TC (TetraSOD[®], El Puerto de Santa María, Andalucía, España). En el apartado 1.6.2. de este trabajo se recopilan los datos sobre la composición de TetraSOD.

El GP ingirió una tableta de placebo de 200 mg que contenía lactosa en polvo. El valor nutricional de la dosis diaria de dicho placebo era de 1,06 kcal, 0,01 g de agua, 0,1 g de carbohidratos, 0,03 g de proteínas y 0,06 g de lípidos.

Como se detalló en el apartado 2.1.1, el protocolo de suplementación tuvo una duración total de 60 días. Con el fin de evitar cualquier sesgo en las interpretaciones tanto de los investigadores como de los participantes, ambas cápsulas tenían exactamente el mismo diseño y las mismas características morfológicas. La ingesta se planificó por las mañanas, durante el desayuno.

Se realizaron cuatro evaluaciones distintas durante las fases experimentales: el día anterior al inicio de la suplementación (basal), tras treinta días de suplementación (mes

1), tras los treinta días siguientes (mes 2) y una valoración final tras treinta días sin ingerir el suplemento (desadaptación).

2.1.7. PROCESO DE PRODUCCIÓN DE TETRASOD®

Para obtener las cantidades necesarias de *Tetraselmis chuii* y poder desarrollar la presente investigación, la empresa Fitoplacton Marino S.L. se encargó del cultivo y la producción de esta microalga.

El proceso de producción constó de cuatro etapas bien definidas: el cultivo, el cosechado, el liofilizado y el envasado.

Cultivo.

El cultivo de TC viene determinado a su vez por dos subfases: la obtención del inóculo y la producción industrial.

Con relación a la obtención del inóculo, la cepa que procede de la colección de algas del Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía (ICMAN-CSIC) se cultiva en condiciones muy controladas de temperatura, luminosidad y CO₂. Una vez que el volumen del cultivo se incrementa notablemente, se incluye en los fotobiorreactores para proceder a su producción industrial.

Para la producción a escala industrial de la microalga se utilizan dos tipos de fotobiorreactores situados en el exterior, estos pueden ser de tipo inoculación o de producción. Los fotobiorreactores son sistemas cerrados aislados del entorno externo para evitar contaminaciones. Además, están constituidos por diversos tanques y tubos transparentes donde se desarrolla el cultivo en condiciones óptimas de temperatura y luminosidad. Tras conseguir la densidad celular de la microalga deseada, se realiza el cosechado de la misma.

Para el cultivo se emplea agua de mar estéril analizada mediante diversas pruebas fisicoquímicas, microbiológicas, de metales pesados y de plaguicidas. De este modo, para asegurar la pureza del cultivo, se recogen y analizan cada año tres muestras de agua. Además, la cepa se renueva cada 15 días y anualmente dos veces a partir de la colección de algas de ICMAN-CSIC para el mantenimiento del cultivo. Igualmente, se controlan diariamente los requerimientos nutricionales del cultivo, así como todas las variables cruciales que garanticen la calidad del proceso.

Cosechado.

Esta fase se lleva a cabo a través del centrifugado del cultivo a 4°C, lo que produce un material pastoso que se recoge en bolsa de plástico para su posterior liofilización.

Liofilizado.

Este proceso se desarrolla empleando temperaturas no superiores a 30 °C, dando como resultado unas tortas de microalgas deshidratadas.

Envasado.

Las tortas de microalgas recogidas anteriormente se trituran a temperatura controlada y son envasadas al vacío en bolsas de 250g. Posteriormente, las bolsas son almacenadas por Fitoplacton Marino S.L. a una temperatura constante de 20°C.

2.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.

El diseño de la metodología de la presente tesis doctoral puede clasificarse como pseudo-experimental. En esta investigación se ha intentado determinar las posibles relaciones causales entre la suplementación con TC y sus posibles efectos sobre los diferentes parámetros fisiológicos, hematológicos, hormonales, bioquímicos y de composición corporal estudiados.

2.2.1. VARIABLES DEL ESTUDIO.

Esta intervención está definida por una variable independiente, que es la ingesta de TC o de placebo, y otras variables dependientes que son desglosadas a continuación:

Variables antropométricas.

- Peso corporal total (peso; Kg).
- Sumatorio de los seis pliegues cutáneos (mm).
- Porcentaje de masa grasa (%MG; %)
- Porcentaje de masa muscular (%MM; %)

Variables hormonales

- Concentraciones sanguíneas de Eritropoyetina (EPO; UI/L)
- Concentraciones sanguíneas de Cortisol (C; mcg/L)
- Concentraciones sanguíneas de factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-1; ng/mL).

- Concentraciones sanguíneas de dehidroepiandrosterona (DHEA; mcg/mL).
- Concentraciones sanguíneas de testosterona libre (T; pg/mL).
- Concentraciones sanguíneas de hormona del crecimiento (GH; ng/mL).

Variables hematológicas.

- Conteo celular de leucocitos (L; miles).
- Concentraciones sanguíneas de neutrófilos (N; $10^3/\mu\text{L}$).
- Concentraciones sanguíneas de basófilos (B; $10^3/\mu\text{L}$).
- Concentraciones sanguíneas de eosinófilos (E; $10^3/\mu\text{L}$).
- Concentraciones sanguíneas de monocitos (M; $10^3/\mu\text{L}$).
- Concentraciones sanguíneas de linfocitos (L; $10^3/\mu\text{L}$).
- Conteo celular de plaquetas (P; miles).
- Plaquetocrito (PTO; %).
- Volumen plaquetario medio (MPV; fL).
- Conteo celular de glóbulos rojos (GR; millones).
- Concentraciones sanguíneas de hemoglobina (Hb; gr %).
- Hematocrito (H; %).
- Volumen corpuscular medio (VCM; fL).
- Hemoglobina corpuscular media (HCM; Pg).

Variables bioquímicas

- Concentraciones sanguíneas de colesterol total (CL; mg/dL).
- Concentraciones sanguíneas de triglicéridos (TGL; mg/dL).
- Concentraciones sanguíneas de lipoproteínas de alta densidad (HDL; mg/dL).
- Concentraciones sanguíneas de lipoproteínas de baja densidad (LDL; mg/dL).
- Concentraciones sanguíneas de aspartato aminotransferasa (GOT; U/L).
- Concentraciones sanguíneas de alanina aminotransferasa (GTP; U/L).
- Concentraciones sanguíneas de gamma-glutamil transferasa (GGT; U/L).

Variables ergoespirométricas

- Tiempo (T; min).
- Velocidad (V; km/h).
- Consumo de oxígeno absoluto (VO_2 ; L/min).
- Consumo de oxígeno relativo ($\text{VO}_{2/\text{Kg}}$; mL/min/kg).

- Volumen de dióxido de carbono (VCO_2 ; L/min).
- Cociente respiratorio (CR; VCO_2/VO_2).
- Ventilación máxima pulmonar (VE; L/min).
- Frecuencia cardíaca (FC; pulsaciones por minuto)
- Presión arterial sistólica previa a la prueba de esfuerzo (PAS pre; mmHg).
- Presión arterial sistólica posterior a la prueba de esfuerzo (PAS pro; mmHg)
- Presión arterial diastólica previa a la prueba de esfuerzo (PAD pre; mmHg).
- Presión arterial diastólica posterior a la prueba de esfuerzo (PAD pro; mmHg)

Variables de flexibilidad y fuerza isométrica máxima

- Fuerza máxima isométrica de extensión de rodillas (FTI; kg).
- Fuerza máxima isométrica de extensión de la columna (FTP; kg).
- Fuerza máxima isométrica de presión manual con la mano derecha (PMD; kg).
- Fuerza máxima isométrica de presión manual con la mano izquierda (PMI; kg).
- Flexibilidad de las cadenas cinéticas anteriores del tronco (FA; cm).
- Flexibilidad de las cadenas cinéticas posteriores del tronco (FP; cm).

Por otra parte, cabe destacar, la presencia de las siguientes variables contaminantes que podían interferir en la calidad de los resultados y debían controlarse de la manera más exhaustiva posible:

- Alimentación e ingesta de otros suplementos. Ambas fueron controladas de la manera más precisa posible, a través de la realización de un registro nutricional durante todo el periodo experimental.
- Actividad física y estilo de vida. Es reseñable que ninguno de los participantes varió sus niveles de actividad física durante el período experimental. Estas variables fueron controladas a través del cuestionario IPAQ y del contacto estrecho entre los participantes y los investigadores.
- Climatología y estación del año. Las condiciones ambientales fueron siempre las mismas durante las valoraciones en el laboratorio. Sin embargo, el entorno climatológico de los individuos en su vida diaria durante el periodo experimental podría interferir en los resultados del presente trabajo. Para controlar parcialmente estas variables, la intervención se realizó durante el

primer cuatrimestre académico, en el cual, tanto las influencias de las altas temperaturas ambientales como la incidencia de los procesos fisiopatológicos producidos por la hipersensibilidad tipo I son menores.

2.2.2. PROTOCOLOS Y HERRAMIENTAS DE VALORACIÓN

Con la finalidad de recopilar todos los datos con el máximo nivel de precisión y evitar la contaminación de los mismos, se realizaron diferentes protocolos de valoración para la medición fidedigna de cada una de las anteriores variables.

Se realizaron todos los protocolos de valoración durante el día de evaluación correspondiente, en el mismo orden y en las mismas condiciones. A continuación, con el fin de mejorar la comprensión de la intervención, se desglosan las distintas valoraciones en el mismo orden en el que se desarrollaron durante los días de evaluación.

2.2.2.1. VALORACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL

Para calcular las diferentes variables relacionadas con la composición corporal se siguieron las directrices propuestas por el grupo internacional de cineantropometría (Marfell-Jones y cols., 2006).

Las variables antropométricas se evaluaron siempre por el mismo investigador, especializado en técnicas de cineantropometría, a la misma hora y en condiciones de ayuno.

Para llevar a cabo estas mediciones se utilizaron las siguientes herramientas: una balanza Seca[®] 769 (Seca. Hamburgo. Alemania), con una precisión de ± 100 g, un tallímetro de pared con una precisión de ± 1 mm (Seca. Hamburgo. Alemania); una cinta métrica de marca Seca[®] 201 (Seca, Hamburgo, Alemania), con una precisión de ± 1 mm; un plicómetro Holtain[®] 610ND (Holtain, Crymych, Reino Unido), con una precisión de ± 0.2 mm y un paquímetro Holtain[®] 604 (Holtain, Crymych, Reino Unido), con una precisión de ± 1 mm.

Las medidas antropométricas evaluadas fueron: talla, peso, pliegues cutáneos (abdominal, suprailíaco, tricípital, muslo y pierna), diámetros óseos (biestiloideo, biepicondíleo humeral y biepicondíleo femoral) y perímetros musculares del brazo y de la pierna relajados.

Los pliegues cutáneos y los diámetros óseos se valoraron a través de plicometría y paquímetría en el hemisferio dominante de los participantes. Para realizar una medición precisa de los mismos se emplearon las siguientes indicaciones:

- El pliegue cutáneo debía ser sostenido mediante los dedos índice y pulgar de la mano no dominante a 1 cm proximalmente del pliegue en cuestión.
- El plicómetro debía ser sujetado con la mano dominante, en dirección perpendicular al pliegue medido y con la escala del plicómetro hacia arriba.
- Debían tomarse dos mediciones de cada pliegue, con un intervalo temporal de 15 segundos entre mediciones, para permitir que los fluidos orgánicos de la ubicación se normalizaran.
- El medidor debía mantener una presión constante entre los dedos índice y pulgar que sujetaban el pliegue durante el momento de la medición.
- La dirección en la que se debían medir los pliegues cutáneos se correspondía con la disposición de las líneas de Langer dérmicas de la zona corporal que se valoraba. La existencia de estas líneas se debe a que la distribución de las fibras colágenas y elásticas de la dermis no presenta una organización aleatoria, es decir, forman líneas de tensión estandarizadas.
- En cuanto a los diámetros óseos, durante el momento de la medición, las ramas del paquímetro se debían ubicar hacia abajo y en la bisectriz del ángulo formado por la articulación correspondiente. La escala del paquímetro debía ser visible por el evaluador durante todo el proceso de medición del diámetro óseo.

A continuación, se detalla la ubicación de cada uno de los pliegues cutáneos, expuestos en el mismo orden en el que se llevaron a cabo las mediciones:

- Pliegue abdominal. Siguiendo la dirección vertical del pliegue, a la derecha de la cicatriz umbilical.
- Pliegue suprailíaco. Se localiza superior a la cresta ilíaca en la línea axilar media. Este pliegue sigue una dirección diagonal teniendo que inclinar el plicómetro unos 45° con respecto a la línea horizontal para medirlo de forma óptima.
- Pliegue tricipital. Se ubica en la cara posterior del brazo en el punto medio entre la proyección lateral del proceso acromion de la escápula y el margen

inferior del olécranon del cúbito. En este pliegue las líneas de Langer se proyectan en dirección vertical.

- Pliegue subescapular. Situado debajo del ángulo inferior de la escápula. Este pliegue sigue un eje longitudinal de 45° con respecto a la horizontal.
- Pliegue del muslo medio. Se localiza en la línea media del muslo, sobre el cuádriceps. Las líneas de Langer de dicho pliegue siguen una dirección vertical
- Pliegue del gemelo. Se ubica en la parte medial de la pierna. Al igual que el anterior pliegue, sus líneas de Langer siguen una dirección vertical

Las ubicaciones correspondientes con los diámetros óseos medidos son las siguientes:

- Diámetro bicondiloideo del fémur, que constituye la distancia existente entre el cóndilo medial y el lateral del fémur.
- Diámetro biestiloideo, que es la distancia que existe entre las apófisis estiloides del radio y del cúbito.

Finalmente se calcularon dos perímetros:

- Perímetro del brazo relajado. La medición de este perímetro se realizaba con los brazos relajados próximos a la línea axilar y en bipedestación. La cinta métrica debía rodear el punto medio de la distancia acromio – radial.
- Perímetro de la pierna relajada. Esta medición se realizaba con el participante en sedestación y con la rodilla flexionada un ángulo de 90°. La cinta métrica debía medir la máxima circunferencia de la pierna.

Tras la recopilación de los datos aportados por estas mediciones, se verificaron las siguientes variables relacionadas con la composición corporal:

Cálculo del porcentaje graso

Esta variable fue calculada a través de la ecuación de Yuhasz (Gris, 2001)

- **$3,64 + (\sum 6 \text{ pliegues} \times 0.097)$.**

Cálculo del porcentaje óseo.

Para calcular el peso óseo (PO) y el porcentaje de masa ósea (%MO) se empleó la ecuación de Von Dohlen y Rocha (Cruz y cols., 2010).

- **$PO = 3,02 \times (\text{Talla}^2 \times D. \text{ biestiloideo} \times D. \text{ bicondiloideo} \times 400)^{0,712}$**

- $\%MO = (PO / \text{Peso total}) \times 100$

Cálculo del porcentaje residual.

El porcentaje residual se estimó a través de la ecuación de Wurch (De la Rosa y cols., 2010). Estos autores consideran que este porcentaje posee un valor constante del 24,1% en hombres, sin desviación estándar apreciable.

Cálculo del porcentaje muscular.

Finalmente, el porcentaje de masa muscular se calculó tomando como referencia el peso muscular. El peso muscular constituye la diferencia entre el peso total y el sumatorio del resto de pesos anteriormente mencionados.

- $PM = \text{Peso total} - PG - PO - PR$
- $\%MM = (PM / \text{Peso total}) \times 100$

2.2.2.2. VALORACIÓN DE LA FRECUENCIA CARDÍACA Y LAS PRESIONES ARTERIALES.

Se evaluaron las presiones arteriales y la frecuencia cardíaca de los participantes en condiciones de reposo y en posición decúbito supino siguiendo las directrices del comité de evaluación y tratamiento de la hipertensión. En primer lugar, los participantes permanecieron en decúbito supino ubicados en una camilla durante 5 minutos. A continuación, en posición de sedestación, se valoraron las presiones arteriales en la extremidad superior izquierda mediante un tensiómetro digital (Visomat confort 20/40, Hoffman-La Roche, Basilea, Suiza).

La evaluación del ritmo cardíaco y las presiones arteriales se implementó tanto en el período de 3 minutos de recuperación tras la prueba ergoespirométrica máxima (por motivos de seguridad) como en la segunda valoración del protocolo experimental. Se evaluó: la PAS, la PAD y la FC en reposo.

2.2.2.3. EXTRACCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS: DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS, HEMATOLÓGICAS Y HORMONALES.

Para la evaluación de los distintos parámetros sanguíneos se extrajo una muestra de 10 ml de sangre de la vena antero-cubital en condiciones de ayuno. La hora de extracción se mantuvo constante a lo largo de todas las fases experimentales con la finalidad de evitar

posibles fluctuaciones de carácter neuroendocrino debidas a los ritmos circadianos. La muestra se recogió en un tubo de polipropileno (Vacutainer, Becton Dickinson, Madrid).

Inmediatamente, tras la extracción sanguínea, las muestras se centrifugaron a 3000 rpm en una centrifugadora digital (Meditronic BL, P-selecta, Barcelona) durante 10 minutos con la finalidad de separar el plasma del resto de elementos sanguíneos. Finalmente, se guardaron a -30°C en un congelador (Horizontal, Lynx, Zaragoza).

Determinación del hemograma.

Para determinar los valores hematológicos, se tomó una muestra de 200 µL de cada tubo de sangre y se precipitó en un cacillo. Seguidamente se colocó en el coulter para su posterior análisis (Coulter Electronics LTD. modelo 6706319; Northwell Drive. Luton. Reino Unido).

Se determinaron los valores de la serie roja, la serie blanca y la serie plaquetaria.

Determinación bioquímica.

La evaluación de las variables bioquímicas del plasma se efectuó a través de espectrofotometría mediante un autoanalizador coulter (CPA, Beckman, Madrid).

Se verificaron los valores de GOT, GPT, GGT, LDL, HDL, TGL y COL.

Determinación hormonal.

La determinación hormonal se realizó mediante la técnica ELISA (ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas), empleando para ello un modelo ER-500 (Sinnova, Alemania) y aplicando las pruebas comerciales de: la eritropoyetina (EPO), el cortisol (C), la testosterona (TES), la dehidroepiandrosterona (DHEA), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) y la hormona del crecimiento (GH). Antes de cada determinación se empleó un proceso de calibración siguiendo las recomendaciones del fabricante. Todos los coeficientes de variación inter e intra ensayos fueron inferiores al 10% para todos los análisis bioquímicos.

Se determinaron las concentraciones de: TES, EPO, C, DHEA, IGF-1 y GH.

2.2.2.4. EVALUACIÓN NUTRICIONAL

Los participantes completaron un registro nutricional en la primera y la última semana del periodo de suplementación con el fin de garantizar que su alimentación se mantuviera invariable a lo largo del estudio.

El registro nutricional recopiló la alimentación de los participantes durante 4 días de la semana, 3 de ellos pre-asignados y un día de fin de semana aleatorio. Los integrantes

del estudio debían indicar la frecuencia, el tipo y la cantidad (en gramos) de cada alimento consumido en estos días. Posteriormente, a través de diversas tablas de composición de alimentos se evaluó la composición nutricional de las dietas de todos los individuos (Cervera, 1983).

2.2.2.5. EVALUACIÓN DE LOS NIVELES DE ACTIVIDAD FÍSICA

Los niveles de actividad física se evaluaron a través de la versión completa del cuestionario internacional de actividad física (IPAQ) y paralelamente al registro nutricional.

Tanto el registro nutricional como la realización del IPAQ se realizaron de manera individual y en condiciones de máxima intimidad en una sala independiente.

2.2.2.6. EVALUACIÓN DE LA FUERZA MÁXIMA ISOMÉTRICA

La fuerza máxima isométrica fue valorada en diferentes grupos musculares a través de dos dinamómetros distintos. Se evaluaron tres acciones diferentes: prensión manual, extensión de las rodillas y extensión de la columna vertebral.

Cabe destacar que estas valoraciones se hicieron siempre a la misma hora, para evitar la posible contaminación de los resultados por los ritmos circadianos.

Valoración de la fuerza máxima isométrica de prensión manual.

Los participantes realizaron un calentamiento específico de esta prueba con el fin de lograr una activación neuromuscular óptima antes de la realización del test. Para ello, los individuos realizaron 15 contracciones sucesivas con cada mano apretando una pelota de foam. Posteriormente, se individualizó el posicionamiento del dinamómetro (Takei A5401, Nigata, Japón) en función de las características anatómicas y ergonómicas de cada participante.

La prueba consistió en una contracción de máxima intensidad con el codo en extensión y sin alejar la extremidad superior de la línea axilar corporal. La contracción debía sostenerse durante 4 segundos en la posición anteriormente mencionada con la finalidad de garantizar la validez de la medición. Primero, se valoró la extremidad dominante y tras 15 segundos la extremidad contralateral. Para asegurar la calidad de los resultados se repitió la prueba dos veces, anotándose siempre la contracción más potente de los dos intentos.

Valoración de la fuerza máxima isométrica de extensión de las rodillas

Siguiendo las directrices de la anterior valoración, se realizó una fase previa de calentamiento específico del test. Dicho calentamiento consistió en la ejecución en bipedestación de 20 flexo-extensiones de la rodilla a un ritmo constante. Durante este movimiento se indicó a los participantes que priorizaran la atención sobre la velocidad de ejecución en la fase concéntrica del cuádriceps. No se debían alcanzar angulaciones inferiores a 90° de la rodilla durante la fase excéntrica del cuádriceps.

Tras realizar el calentamiento, se ajustó la posición del dinamómetro (Takei T16K, Niigata, Japón) a las características antropométricas de los participantes. La angulación de las rodillas debía ser de 120°, verificándose a través de un goniómetro manual. El participante debía posicionarse sobre la plataforma del dinamómetro, con los pies paralelos y separados a la anchura biacromial, respetando las curvaturas fisiológicas de la columna vertebral. Desde esta posición de partida, los individuos tenían que realizar una contracción máxima de los cuádriceps intentando extender las rodillas durante un intervalo de 5 segundos y no podían utilizar la extensión de la columna vertebral de forma compensatoria durante el esfuerzo. Posteriormente, se llevó a cabo una recuperación de 30 segundos e inmediatamente se volvió a realizar otro intento. Como se ha citado anteriormente, se anotó el mejor de los dos intentos.

Valoración de la fuerza máxima isométrica de extensión de la columna vertebral

Después de 3 minutos de recuperación de la anterior prueba, los participantes realizaron sobre el mismo dinamómetro la evaluación de la fuerza máxima isométrica de las cadenas posteriores.

Para esta evaluación los individuos realizaron un calentamiento específico que consistió en la ejecución de 3 series de 5 segundos de contracción isométrica sostenida de los extensores de la columna vertebral en posición decúbito-prono sobre una esterilla. Los tobillos debían estar juntos siendo inmovilizados por un segundo compañero. Entre series se descansó 10 segundos.

Posteriormente, se desarrolló el test. En este caso, los ajustes del dinamómetro respetaban los mismos requisitos que en la anterior evaluación. Sin embargo, en este test la posición de partida se caracterizó por una extensión completa de las rodillas. A partir de esta postura, los individuos debían realizar una contracción isométrica máxima durante 5 segundos focalizando el esfuerzo en los extensores de la columna vertebral e intentando

extender el tronco lo máximo posible. Como en los anteriores casos, la prueba se repitió dos veces, con una recuperación de 30 segundos entre los dos intentos, anotándose el mejor resultado.

2.2.2.7. EVALUACIÓN DE LA FLEXIBILIDAD.

Tras la valoración de la fuerza, se procedió a realizar la evaluación de la flexibilidad de la cadena anterior y posterior del tronco. Durante las pruebas de flexibilidad, dadas sus características de ejecución, podrían desencadenarse reflejos inhibitorios que relajaran el músculo esquelético. Si este test se desarrollara inmediatamente antes de las pruebas de fuerza dichos reflejos podrían interferir negativamente en la producción de tensión mecánica e incluso aumentar el riesgo de lesiones músculo-tendinosas. Por esta razón, se consideró oportuno realizarlo después de la valoración de la fuerza muscular.

Antes de comenzar las pruebas de flexibilidad, los participantes realizaron un calentamiento general de 5 minutos orientado exclusivamente a la movilidad articular. Se indicó a los individuos que realizaran la movilidad de las articulaciones en orden descendente, es decir, comenzaron con la movilización de las articulaciones superiores y terminaron con las inferiores. También, se realizaron flexiones, extensiones y rotaciones de las diferentes articulaciones a una velocidad controlada. Cada articulación debía moverse durante 20 segundos.

Cabe destacar que para el desarrollo de ambos test, se siguieron en todo momento las directrices de Lopez y cols. (2007) (López, 2007).

Valoración de la flexibilidad de la cadena posterior.

Se valoró la flexibilidad de las cadenas posteriores a través de una flexión de la columna vertebral en posición de bipedestación sobre una plataforma de medición de la flexibilidad (Takei 1229, Takei Scientific Instruments, Nigata, Japón). Los participantes con los brazos extendidos y los pies juntos sobre la plataforma, debían flexionar la columna vertebral progresivamente deslizando un tope móvil calibrado. Una vez que llegaron a la posición final de flexión máxima, se les indicó que debían mantenerla durante 2 segundos. Se realizaron dos intentos y se anotó el mejor resultado.

Como criterio de ejecución principal se verificó que los participantes mantuvieran la articulación de la rodilla extendida, sin flexionarla en ningún momento durante el test. Tras realizar esta prueba, los participantes descansaron 2 minutos.

Valoración de la flexibilidad de la cadena anterior

Para evaluar la flexibilidad de la cadena anterior se empleó la prueba de extensión de la columna en posición decúbito-prono sobre una esterilla, con los tobillos juntos (sujetados por un segundo compañero) y con las manos cruzadas sobre la región dorso-lumbar. Partiendo de esta posición base, los participantes debían realizar una extensión progresiva máxima de la columna vertebral teniendo que mantener la posición final durante 3 segundos, elevando al máximo el mentón. En esta posición, se midió la distancia del mentón con respecto al suelo a través de un tallímetro manual (Takei, Takei Scientific Instruments, Niigata, Japón). Se realizaron 2 intentos, registrándose solamente el mejor resultado.

2.2.2.8. EVALUACIÓN ERGOESPIROMÉTRICA.

Finalmente, tras la realización de todas las pruebas anteriores, se procedió a la valoración ergoespirométrica en tapiz rodante (Ergofit 4000, Ergoline, Alemania). Los valores ergoespirométricos se registraron a través de un analizador de gases (Metamax, Cortex, Alemania) y su correspondiente software del mismo fabricante. La frecuencia cardíaca se verificó mediante un pulsímetro (Polar S720 i, POLAR, Finlandia).

Antes de comenzar el protocolo, se debían cumplir los siguientes criterios y en el mismo orden:

1. Calibrar de forma óptima el analizador de gases siguiendo las directrices del fabricante.
2. Introducir el peso corporal y la talla del individuo en el software del analizador.
3. Implementar los dispositivos de medición en los participantes (la mascarilla con los capilares de conducción gaseosa y el pulsómetro).
4. Recordar a los participantes el protocolo de esfuerzo, así como los diferentes criterios de seguridad establecidos.
5. Comprobar que el software registraba correctamente los valores basales de los participantes.

El protocolo de esfuerzo diseñado se correspondió con los siguientes puntos:

- En primer lugar, se realizó un calentamiento de activación de 7 minutos. En esta fase se controlaba que la frecuencia cardíaca de los participantes se situara en torno a 90-110 ppm.

- Tras realizar el calentamiento, comenzaba el protocolo de esfuerzo. Este protocolo se correspondió con una prueba máxima incremental escalonada, donde la velocidad aumentaba cada 2 minutos hasta la extenuación de los participantes. El protocolo se inició a una velocidad de 6 km/h, aumentando la carga 1 km/h cada vez que se superaba un escalón.
- Cuando los participantes llegaban a la extenuación fisiológica, se les aplicaba una recuperación de 3 minutos en posición de bipedestación sobre el tapiz rodante estático. Durante este período se continuó registrando las constantes vitales, las variables ergoespirométricas y se monitorizaron las presiones arteriales.
- La totalidad de las valoraciones ergoespirométricas se realizó bajo las condiciones ambientales y de seguridad detalladas en el apartado 2.1.3.

Análisis de los umbrales ventilatorios.

Los umbrales ventilatorios podrían definirse como momentos metabólicos que representan cambios significativos en el tipo de vías enzimáticas utilizadas (citosólicas o mitocondriales) para obtener ATP. Tanto en el ámbito deportivo como en el de la investigación, la determinación de dichos umbrales ha adquirido una gran importancia durante las últimas décadas.

Para comprender correctamente el concepto de umbral, es importante tener en cuenta que los umbrales se desarrollan sobre la base del continuum energético. En este principio se sostiene que las vías metabólicas de producción energética operan conjuntamente en todo momento, es decir, los metabolismos aeróbicos y los anaeróbicos coexisten siempre. Sin embargo, en función del tipo de esfuerzo físico, existe una mayor o menor predominancia de las vías aeróbicas o de las anaeróbicas.

Por lo tanto, los umbrales ventilatorios no se corresponden con cambios drásticos en las vías energéticas utilizadas, sino que constituyen variaciones secuenciales en las que comienza a predominar la obtención energética a partir de los sistemas anaeróbicos. Los umbrales se pueden relacionar de forma directa con la intensidad del esfuerzo, la carga externa, el tiempo, la velocidad, la frecuencia cardíaca y otros parámetros fisiológicos que también se vinculan linealmente con la intensidad. Esto facilita el uso de los umbrales como herramientas fundamentales de individualización en el ámbito científico-deportivo.

Según lo anteriormente mencionado, en la presente tesis doctoral se han empleado las directrices propuestas por el modelo trifásico de Skinner y McLellan para realizar la determinación de los umbrales ventilatorios (Skinner y McLellan, 1980).

Los principios teóricos de estos autores describen la transición del metabolismo aeróbico al anaeróbico. Este modelo se fundamenta en la existencia de tres fases metabólicas diferentes:

Fase 1.

Durante un esfuerzo de baja intensidad, los tejidos tienen la capacidad de extraer grandes cantidades de oxígeno. Ello implica una disminución en el registro de la fracción de oxígeno en el aire espirado (FEO_2). Además, los valores de VO_2 , VE , VCO_2 y FC aumentan lineal y progresivamente debido al incremento gradual de la intensidad. El CR durante esta fase se encuentra entre 0,7 y 0,8 lo que, junto a los bajos niveles de lactato, indica un alto grado de involucración de los metabolismos aeróbicos. Durante esta etapa existe una participación predominante de las fibras musculares tipo I, utilizándose las grasas como sustrato energético principal. Esta fase culmina con el umbral aeróbico, punto caracterizado por una primera inflexión del VE y del VCO_2 y una intensidad relativa situada entre el 40% y el 60% del VO_{2max} . Esta respuesta ventilatoria concuerda con los mecanismos de compensación del centro respiratorio, que intentan hacer frente a la acidosis inducida por los aumentos drásticos del VCO_2 y por la duplicación de las concentraciones de lactato con respecto a las basales (2 mmol/L).

Fase 2.

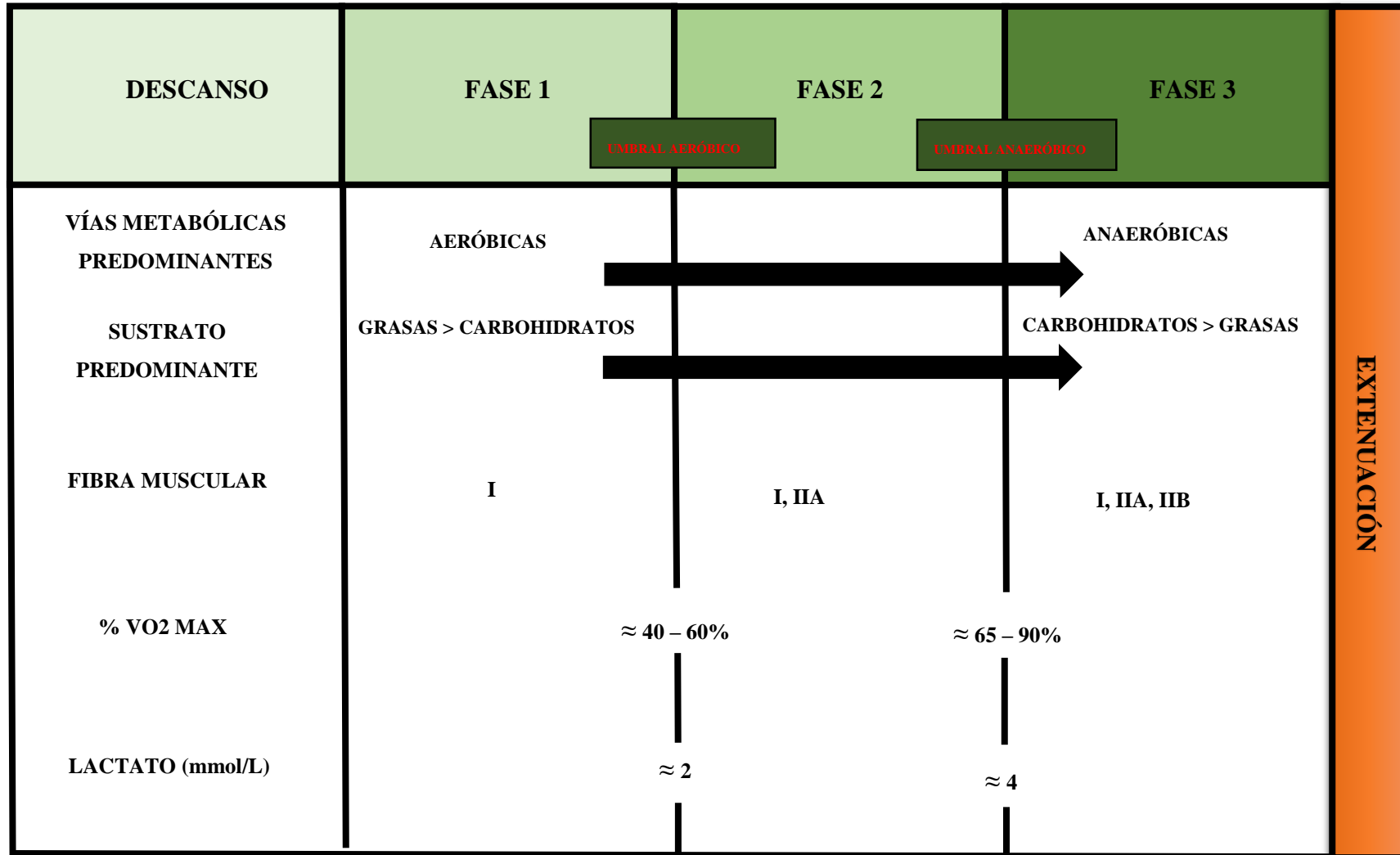
Constituye la fase de transición aeróbica – anaeróbica propiamente dicha. A medida que la intensidad del esfuerzo aumenta y se sobrepasa el umbral aeróbico, el lactato sigue incrementando sus concentraciones. Los valores de VO_2 y FC continúan incrementándose linealmente. Durante este periodo se considera que existe una predominancia mixta en la utilización de las fibras tipo I y tipo II-A, que conforme se incrementa la intensidad del esfuerzo se desplaza hacia las fibras de tipo II-A, con mayor aumento del consumo de carbohidratos como fuente energética principal. Esta fase finaliza en el conocido umbral anaeróbico, generalmente observado a una intensidad relativa entre el 65% y el 90% del $VO_2 max$, donde los niveles de lactato vuelven a duplicarse alcanzando aproximadamente 4 mmol/L, debido a la importante contribución de la glucólisis anaeróbica. Este umbral

se caracteriza por la detección de un segundo punto de inflexión en los valores de VE y VCO₂, incrementándose en mayor medida que el VO₂.

Fase 3.

Esta fase es predominantemente anaeróbica. La producción de lactato sigue incrementándose debido a la elevada oxidación de glucosa en el citosol junto con la gran participación de las fibras musculares de tipo II-B, caracterizadas por poseer potentes predominancias en el metabolismo anaeróbico. Esta fase culmina con la extenuación del individuo debido a que sus sistemas de compensación fisiológica se saturan y no puede hacer frente a las demandas del esfuerzo físico.

Figura 29. Esquema general modificado de las características fundamentales de cada fase del modelo trifásico de Skinner y Mcleal.



2.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Inicialmente se exploró la presencia de posibles datos atípicos mediante una evaluación gráfica empleando el diagrama de tallo y hoja con la finalidad de realizar un análisis estadístico preciso. Posteriormente, se evaluó si la magnitud de estos datos podría contaminar la estadística de los resultados, corrigiéndose si fuera necesario.

Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 20.0 para Windows (SPSS Inc., Chicago, IL, EE. UU.) y los gráficos se desarrollaron utilizando Prism Graph Pad (versión 8). La normalidad de la distribución de las variables se analizó mediante el test de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de las varianzas con el test de Levene. La distribución de las variables no se ajustó a la normalidad. Por lo tanto, para establecer las diferencias intra-grupales se aplicó el Test de Wilcoxon para muestras relacionadas. Además, se aplicó la Prueba U de Mann-Whitney para conocer la magnitud estadística de las diferencias entre los grupos de estudio.

Una $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativa. Los resultados se expresan como media \pm desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTS AND DISCUSSION

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tras haber descrito las metodologías anteriores, el presente apartado se divide en tres secciones diferentes vinculadas directamente a los objetivos específicos establecidos en esta tesis doctoral, con la finalidad de facilitar la organización y la comprensión de los resultados obtenidos.

La primera sección aborda los posibles efectos del consumo de TC sobre los parámetros hormonales y hematológicos (objetivo específico número 3). La segunda sección se orienta a los posibles efectos de la ingesta de TC sobre los valores bioquímicos de los participantes (objetivo específico número 1), la tercera sección se enfoca hacia el análisis de los posibles efectos de la suplementación con TC sobre los parámetros ergoespirométricos, antropométricos y de condición física de los individuos (objetivo específico número 2) y, por último, se detallan las consideraciones sobre el cuarto objetivo, relacionado con la verificación de la dosis más efectiva.

Tabla 11. Valores del registro nutricional recogidos a lo largo de la investigación.

Variable	Evaluación	GP (<i>n</i> = 16)	GS 25 (<i>n</i> = 15)	GS 200 (<i>n</i> = 15)
Ingesta total (Kcal/día)	Basal	1923,50±345,20	2117,10±256,7 20	2227,80±234,43
	Final	2234,10±421,60	2005,10±341,60	1927,40±342,10
Proteínas (g/día)	Basal	125,30±25,80	130,20±17,20	127,10±23,12
	Final	128,40±27,60	127,20±19,80	133,50±34,10
Carbohidratos (mg/dL)	Basal	283,00±63,10	255,70±32,00	251,34±65,70
	Final	288,10±56,20	253,60±68,20	268,21±43,20
AGS (g/día)	Basal	24,21±20,13	21,03±19,70	22,35±16,40
	Final	28,45±26,40	20,70±20,30	24,12±19,20
AGM (g/día)	Basal	27,89±120,00	29,34±34,00	28,56±21,30
	Final	28,34±21,30	27,67±35,10	30,31±45,10
AGP (g/día)	Basal	11,78±4,12	12,54±3,45	12,03±5,60
	Final	11,02±5,60	13,21±2,56	11,40±2,34
Colesterol (mg/día)	Basal	328,10±87,10	340,23±89,45	338,45±65,70
	Final	330,23±78,30	338,67±67,80	343,67±65,90

GS: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; AGS: ácidos grasos saturados; AGM: ácidos grasos monoinsaturados; AGP: ácidos grasos poliinsaturados; g: gramos; Kcal: kilocalorías.

Antes de iniciar la discusión de cada una de estas tres secciones, se ha considerado conveniente analizar los datos obtenidos del registro nutricional que se llevó a cabo a los participantes durante el transcurso de la investigación. Cualquier variación significativa en la ingesta alimentaria de los individuos podría contaminar los datos del presente trabajo. Por ello, creemos que su correcta evaluación es crucial para interpretar

correctamente los resultados obtenidos. En la tabla 11 se recopila la información obtenida de los registros nutricionales que se llevaron a cabo.

Como puede observarse en la tabla, no se produjeron variaciones estadísticamente significativas en la dieta de los participantes durante el desarrollo de la investigación. Aunque el registro se encuentre limitado por la ausencia de la medición de micronutrientes, en lo que respecta a los macronutrientes este aporta una perspectiva general de que la alimentación de los participantes fue constante en todo momento.

3.1. EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LOS PARÁMETROS HORMONALES Y HEMATOLÓGICOS.

Hemos considerado conveniente que los resultados y la discusión de la presente tesis doctoral se inicie a través de este epígrafe, pues pensamos que las variaciones hematológicas y hormonales registradas constituyen la base fisiológica que podría explicar los posibles efectos de la suplementación provocados por la microalga sobre el resto de las variables.

Para facilitar la organización de este apartado, este se divide en cuatro bloques de resultados, agrupados en función del sistema fisiológico al que pertenecen. En primer lugar, se abordan los datos referentes a las diferentes hormonas, en segundo lugar, los pertenecientes a la serie roja sanguínea, en tercer lugar, los relacionados con las series blanca y plaquetaria sanguíneas y en cuarto lugar los vinculados con las dosis más efectivas.

3.1.1. PARÁMETROS HORMONALES.

Los datos pertenecientes a la valoración de los parámetros hormonales en los tres grupos de estudio se encuentran agrupados en la tabla 12. Se observaron incrementos significativos de la EPO ($p < 0,05$) en el GS 25 y en el GS 200, tras dos meses de suplementación, en comparación con los niveles basales. Del mismo modo, se apreció un descenso ($p < 0,05$) de los valores de dicha hormona en el GS 25 tras el periodo de desadaptación con respecto al mes 2. Cabe destacar que, en estos dos grupos, se registraron fuertes incrementos significativos ($p < 0,01$) de los valores del IGF-1 durante el mes 2 con respecto a los niveles iniciales. Además, en el GS 25 durante el mes 2 y la desadaptación se obtuvieron aumentos de la TES ($p < 0,05$) en comparación con las concentraciones basales. Con referencia al GS 200, se detectó un descenso significativo de los niveles de GH ($p < 0,05$) tras el cese de la suplementación con respecto a los valores

del mes 1. En el GP durante la desadaptación se detectaron incrementos significativos de: las concentraciones de C ($p < 0,05$) con respecto a los valores iniciales, de la DHEA ($p < 0,05$) en comparación con los obtenidos en el mes 2 y de la TES ($p < 0,05$) con relación a las concentraciones del mes 1. Por otra parte, entre los participantes del GP se halló una disminución significativa de los niveles de la GH ($p < 0,05$) tras la desadaptación, con respecto tanto a los valores basales como a los correspondientes del mes 2. Finalmente, se manifestaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el GS 200 y el GP en los niveles de DHEA durante el mes 2 así como en las concentraciones de TES durante el mes 1.

Tabla 12. Concentraciones hormonales durante el transcurso de las evaluaciones.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Eritropoyetina (UI/L)	Basal	10,18±1,60	10,00±3,33	9,49±1,76
	Mes 1	9,93±2,03	10,08±3,12	9,39±2,72
	Mes 2	10,05±2,06	11,63±3,35^Ω	10,76±2,75^Ω
	Desadaptación	9,64±2,37	9,86±4,09[#]	10,25±3,28
Cortisol (mcg/dL)	Basal	12,51±2,81	12,55±2,30	14,02±3,20
	Mes 1	12,78±2,60	12,67±2,69	12,5±2,84
	Mes 2	13,62±3,09	12,57±3,43	13,07±3,44
	Desadaptación	14,13±2,83^{Ωμ}	15,01±3,53	15,04±2,74
IGF-1 (ng/ml)	Basal	269,68±65,55	253,25±60,9	260,5±70,92
	Mes 1	278,81±77,71	298±129,68	314,67±140,53
	Mes 2	276,59±63,90	361,58±129,77^{ΩΩ#}	382,66±147,67^{ΩΩ#}
	Desadaptación	271,87±58,97	420,31±140,45^{ΩΩμ}	379,08±91,61^{ΩΩ}
DHEA (mcg/mL)	Basal	3,43±0,90	3,30±0,91	4,16±1,35
	Mes 1	3,50±1,22	3,43±1,17	4,16±1,23
	Mes 2	3,33±1,18	3,41±1,06	4,20±1,03*
	Desadaptación	3,97±1,94 [#]	3,91±1,33^Ω	4,32±1,09
Testosterona libre (pg/mL)	Basal	21,39±5,04	18,31±4,03	22,4±5,28
	Mes 1	18,51±5,51	22,67±11,45	24,18±7,58*
	Mes 2	18,98±5,67	21,55±5,63^Ω	23,73±9,99
	Desadaptación	22,84±8,87^μ	21,87±6,13^Ω	26,71±11,80
GH (ng/ml)	Basal	0,83±1,93	0,32±0,41	0,51±0,94
	Mes 1	0,60±1,13	0,64±1,08	0,45±0,60
	Mes 2	0,34±1,01	1,12±1,90	0,26±0,43
	Desadaptación	0,14±0,17^{μΩ}	0,12±0,12	0,11±0,12^μ

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; GH: hormona del crecimiento; DHEA: dehidroepiandrosterona; IGF-1: factor de crecimiento similar a la insulina 1.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. [#] $p < 0,05$ diferencias con respecto a la evaluación previa; ^μ $p < 0,05$ diferencias de la desadaptación vs, mes 1; ^Ω $p < 0,05$ desadaptación o mes 2 vs, basal ^{ΩΩ} $p < 0,01$ desadaptación o mes 2 vs, basal.

Test de U Mann Whitney: diferencias entre grupos * $p < 0,05$ diferencias entre GP vs, SG 200 o SG 25.

En los grupos suplementados, se observaron multitud de cambios endocrinológicos.

Algunos de los fenómenos endocrinos más interesantes apreciados en esta investigación,

fueron los aumentos significativos de las concentraciones de la EPO ($p < 0,05$) únicamente en los grupos suplementados.

Como ya se ha tratado en la introducción, la EPO es la hormona clave de la regulación eritropoyética. La presencia de sus receptores específicos en las células progenitoras eritroides de la médula ósea, especialmente en las células más diferenciadas como las CFU-E y los proeritroblastos, otorga a la EPO la capacidad de realizar sus funciones (Mulcahy, 2001; Shinjo y cols., 1997). De este modo, la EPO actúa aumentando la eficiencia y la eficacia de prácticamente todos los procesos eritropoyéticos (Fried, 2009; Lombardero y cols., 2011).

La EPO es una glucoproteína que consta de cuatro residuos de carbohidratos que evitan que esta hormona sea degradada rápidamente por el hígado y pueda llevar a cabo sus funciones correctamente (Fried, 2009). El órgano primario de producción de la EPO en adultos es el riñón y en algunas ocasiones excepcionales se sintetiza en el hígado. El proceso de síntesis de la EPO está regulado principalmente por el suministro de oxígeno a un sensor renal (Fried, 2009; Wilmore y Costill, 2015; Vittori y cols., 2021). Las condiciones fisiológicas que disminuyen el aporte de oxígeno a este sensor estimulan notablemente la producción de la EPO. De forma primordial, el gen que codifica para la síntesis de la EPO se activa por el HIF-1, que se une a la región sensible a la hipoxia de este gen para activar sus procesos de transcripción (Hall, 2020; Rolando, 2022).

Aunque las relaciones entre el aporte de oxígeno y las necesidades de oxígeno sean los reguladores fisiológicos más importantes para la producción de la EPO, existen otros reguladores que se siguen revisando actualmente. En este aspecto, se ha demostrado que los esteroides androgénicos, los esteroides anabólicos y el cloruro de cobalto posiblemente estimulan la producción de la EPO por diferentes mecanismos de acción, que aún siguen investigándose (Abdul y cols., 2021; Belaidi y cols., 2012; Johnson, 2000; Muñoz-Sánchez y cols., 2018; Shahani y cols., 2009; Weber y cols., 1991). También, se ha observado que el gen de la EPO se expresa en tejidos extrarrenales, como en diversas células del sistema inmune, e incluso en el tejido hematopoyético de la médula ósea (Perron-Deshaies y cols., 2020). Sin embargo, la importancia fisiológica de estos compartimentos extrarrenales en la producción de la EPO aún requiere una mayor aclaración.

Pese a la escasez de literatura científica que ha revisado los posibles efectos de las microalgas sobre la síntesis de la EPO, cualquiera de las anteriores vías podría verse involucrada en los incrementos de las concentraciones de la EPO registrados en la presente investigación. En esta línea, diversos trabajos como el de Hayashi y cols. (2006) han evidenciado que ciertos pigmentos presentes en las cianobacterias como la C-ficocianina podrían mimetizar los efectos de la EPO, aumentando la proliferación de las células madre hematopoyéticas en la médula ósea de ratones (Hayashi y cols., 2006; Hu, 1994). Estos hallazgos se basan en la idea de que las C-ficocianinas poseen receptores en las CFU-E de la médula ósea, pudiendo tener la capacidad de estimular todos los procesos eritropoyéticos (Zhang, 1994; Hu, 1994). Otros trabajos más recientes, como el llevado a cabo por los autores Nasirian y cols. (2017), han investigado los efectos de la microalga *Spirulina Platensis* sobre los parámetros hematológicos de ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina (Nasirian y cols., 2017). Según estos autores, el grupo de ratas que se suplementó con *Spirulina Platensis* mejoró los parámetros relacionados con los hematíes, así como las concentraciones sanguíneas de la hemoglobina. En consonancia con estos resultados, Simsek y cols. (2007), observaron que la suplementación oral de *Spirulina platensis* en dosis de 300 mg/kg/día en ratas *Wistar* producía efectos eritropoyéticos evidenciados por los aumentos de los recuentos de glóbulos rojos y las concentraciones sanguíneas de hemoglobina (Simsek y cols., 2007). Este conjunto de autores, proponen que la *Spirulina* podría inducir un incremento de la EPO mediante mecanismos celulares aún no establecidos con claridad.

Hasta donde se conoce, ningún trabajo ha reportado aumentos de la EPO asociados al consumo de microalgas eucarióticas. Por lo tanto, todavía no existen observaciones que hayan aclarado los mecanismos celulares que podrían explicar el incremento de la EPO registrado en la presente tesis doctoral. De este modo, cualquier componente bioquímico de TC que se involucre en algunas de las vías de producción de la EPO anteriormente mencionadas podría modificar la síntesis de esta hormona.

En primer lugar, con respecto a la vía estimulada por la hipoxia liderada por el HIF-1, existen posibles mecanismos de acción relacionados con el consumo de TC. Para hacer frente a las condiciones hipóxicas, los sistemas fisiológicos han evolucionado mediante respuestas adaptativas que se manifiestan por una mayor expresión del HIF-1 (Semenza, 2000). El HIF-1 está formado por un dímero en el que se incluye una subunidad α sensible al oxígeno y otra subunidad β expresada constitutivamente y representa un factor de

transcripción y regulador maestro de los genes, los cuales se activan como una respuesta a la hipoxia (Adams y cols., 2009). Durante la normoxia el dominio de degradación dependiente del oxígeno (DDO), constituido por 200 aminoácidos y presente en el HIF-1 α , sufre la hidroxilación por la enzima prolil hidroxilasa (PHD) en uno de sus residuos de prolina y, como consecuencia, queda marcado bioquímicamente para su degradación dependiente de la vía proteosómica (Berra y cols., 2001; Yuan y cols., 2003). En este proceso, la proteína von Hippel-Lindau (pVHL), molécula supresora de tumores, interviene de una forma determinante en la ubiquitinación y la degradación en el proteosoma de HIF- α al unirse al dominio ODD en condiciones de normoxia (Yuan y cols., 2003). Contrariamente, durante la hipoxia el HIF-1 α se transloca al núcleo celular, lo que da como resultado la elevación de varias moléculas efectoras como la EPO y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) (Krieg y cols., 2000; Miller y cols., 2005; Yuan y cols., 2003).

Así, en el presente trabajo, uno de los mecanismos que explicarían el aumento de las concentraciones de la EPO podría ser la estabilización o la inhibición de la degradación del HIF-1 α . En consonancia con esta idea, la TC posee una composición rica en cloruros, siendo el cloruro de cobalto considerado, por un amplio cuerpo de evidencias científicas, como un factor que promueve la síntesis de la EPO (Wang y Semenza, 1995; Yuan y cols., 2003). Ha sido bien documentado que el cloruro de cobalto puede imitar las condiciones hipóxicas provocando la estabilización del HIF-1 α . Este efecto lo produce a través de su unión al DDO, inhibiendo así el sitio activo de la PHD (Yuan y cols., 2003). Consecuentemente, el HIF-1 α no puede ser hidroxilado ni detectado por las pVHL, suprimiéndose su degradación proteosómica y alargando su tiempo de vida media útil (Muñoz-Sánchez y cols., 2018; Yuan y cols., 2003).

Otras de las vías que podrían explicar los aumentos de la EPO, registrados en nuestro estudio, constituye la posible estimulación androgénica producida por el consumo de TC. En este sentido, se registraron incrementos significativos ($p < 0,05$) de las concentraciones de TES en el GS25. Sin embargo, en el GS 200, aunque el incremento no llegó a la significancia estadística intragrupal, si se produjo una tendencia claramente positiva que alcanzó valores significativamente mayores ($p < 0,05$) en comparación con los del GS25. Los efectos de los andrógenos sobre el sistema hematológico, en particular sobre la eritropoyesis, se conocen desde hace mucho tiempo (Mirand, 1965). Esto concuerda con algunas observaciones en las que se verifica que los hombres poseen concentraciones

promedio de hemoglobina más altas que las mujeres y que se producen anemias e incluso pancitopenias en hombres con hipogonadismo (Bachman y cols., 2014; A. M. Warren y Grossmann, 2022).

Los mecanismos subyacentes a la estimulación androgénica de la eritropoyesis todavía no se comprenden por completo, pero se piensa que ocurren mediante la estimulación de la EPO y, probablemente, a través de diversos efectos directos sobre las células madres hematopoyéticas que las sensibilicen a la EPO (Shahani y cols., 2009). Adicionalmente a estos efectos, también se ha demostrado que el papel eritropoyético de los andrógenos puede deberse a las involucraciones que poseen en el metabolismo del hierro pues elevan la eritroferrona e inhiben la hepcidina, propiciando un incremento de la biodisponibilidad del hierro (Bachman y cols., 2014; Guo y cols., 2013).

En cuanto a la posible estimulación de la EPO mediada por los andrógenos, cabe destacar que la EPO se produce predominantemente a través de los fibroblastos intersticiales en el riñón, que también expresan receptores para la TES (Warren y Grossmann, 2022). De este modo, la TES se une a los receptores androgénicos estimulando la producción de la EPO e, igualmente, aumentando la masa renal mediante sus efectos anabólicos (Ballal y cols., 1991; Shortliffe y cols., 2014). Esto concuerda con los resultados de una gran cantidad de estudios clínicos que informan sobre concentraciones elevadas de EPO tras la administración de andrógenos (Brockenbrough y cols., 2006; Shahidi, 2001). Tras la suspensión del tratamiento androgénico las concentraciones medibles de EPO vuelven a situarse en los niveles basales. Además, existen evidencias en animales de que las concentraciones de EPO pueden llegar a aumentar de 2 a 4 veces tras las primeras 48 horas de tratamiento con TES o DHEA (Warren y Grossmann, 2022; White y cols., 2022) .

Estos hallazgos ponen de manifiesto que, probablemente, el pico de concentración sanguínea de la EPO tras el consumo de TC tenga lugar durante las horas posteriores a su ingestión. Por ello, las elevaciones androgénicas registradas en los grupos suplementados con TC constituyen una de las explicaciones más plausibles del incremento de las concentraciones de la EPO, verificado en este trabajo.

Existen otros tejidos extrarrenales donde también se expresan los genes de la EPO y que poseen la capacidad para sintetizarla aunque en menores volúmenes en comparación con el riñón (Fried, 2009). Curiosamente, se ha observado que ciertas estirpes de

macrófagos pertenecientes al sistema inmune exhiben estos genes (Rich y cols., 1982). El papel de los macrófagos en el mantenimiento de la eritropoyesis es un área de estudio activa en la actualidad.

Desde el descubrimiento de las islas eritroblásticas en la médula ósea por M. Bessis (1958) (Bessis, 1958), se han descrito varias funciones de los macrófagos presentes en la médula ósea, incluidas la estimulación de la proliferación eritroblástica, la distribución del hierro a los progenitores eritroides y la fagocitosis de los núcleos extruidos (Chasis y Mohandas, 2008; Chow y cols., 2013; Sadahira y Mori, 1999). Hace décadas, en 1988, se publicó un estudio que informó sobre la expresión del gen de la EPO en los macrófagos de la médula ósea en ratones (Rich y cols., 1988). Sin embargo, este interesante hallazgo no volvió a investigarse hasta el 2016, cuando Luo y cols. (2016) observaron que los macrófagos poseían la capacidad de secretar EPO cuando se estimulaban con esfingosina-1-fosfato, sustancia liberada durante la apoptosis de los eritroblastos (Luo y cols., 2016). Posteriormente, se ha demostrado que las cantidades discretas de EPO producidas por los macrófagos medulares estimulados por la detección de eritroblastos apoptóticos pueden incrementar las señales de supervivencia para las células progenitoras eritroides, estimulando así la eritropoyesis (Perron-Deshaies y cols., 2020).

Con relación a estos hallazgos, las microalgas poseen potentes propiedades inmunoestimuladoras, ya descritas en la introducción. La MEC de TC contiene polisacáridos sulfatados que pueden ser reconocidos por los receptores TLR de los macrófagos presentes en las placas de Peyer intestinales (Huang y cols., 2019; Makarenkova y cols., 2012). Esta estimulación de la actividad macrofágica intestinal podría inducir discretos aumentos de la EPO que acabarían alcanzando el torrente sanguíneo. Así, es probable que esto contribuya a los incrementos globales de la EPO, registrados en el presente trabajo, aunque más investigación es necesaria para esclarecer este posible mecanismo de acción.

La probable liberación de diversos péptidos bioactivos tras la digestión de TC en el tracto gastrointestinal, es otro mecanismo posiblemente involucrado en el aumento de las concentraciones de la EPO en los grupos suplementados con TC. Ciertos péptidos podrían estimular directamente las vías productoras de la EPO (Toro y cols., 2020). Hasta la fecha, no se han reportado biopéptidos hematopoyéticos presentes en la TC, por lo que esto constituye una interesante área de investigación futura.

En relación a los incrementos del IGF-1, estos constituyen uno de los hallazgos con más solidez estadística de esta investigación. Se registraron aumentos fuertemente significativos ($p < 0,01$) de las concentraciones del IGF-1 en los grupos suplementados con TC durante el segundo mes. Además, en estos grupos, tras el periodo de desadaptación, las concentraciones del IGF-1 permanecieron significativamente más altas ($p < 0,01$) con respecto al inicio del estudio. Según estos resultados, parecería lógico pensar que el consumo de TC podría afectar notoriamente al eje GH-IGF-1. Como ya se mencionó en la introducción, el IGF-1 es un factor de crecimiento proteico producido principalmente por el hígado en respuesta de la GH secretada por la hipófisis (Timmer y cols., 2018). El IGF-1 actúa sobre los tejidos diana mediante la unión a su receptor IGF-1R. Sus funciones se encuentran estrechamente ligadas al crecimiento de los tejidos, actuando sobre la apoptosis, la proliferación celular y la progresión del ciclo celular (Ascenzi y cols., 2019; Barclay y cols., 2019; Muta y cols., 2019).

Actualmente, no existen evidencias sólidas que relacionen la suplementación con microalgas y la elevación de las concentraciones del IGF-1. Algunos estudios como Cho y cols. (2020) observaron aumentos altamente significativos de los niveles de IGF-1 ($p < 0.001$) e IGFBP-3 tras 7 semanas en ratas suplementadas con *Spirulina Platensis* (Cho y cols., 2020). De acuerdo con estos resultados Fournier y cols. (2016) evidenciaron aumentos de las concentraciones del IGF-1 tras 9 semanas de suplementación con *Spirulina* en ratas sometidas a desnutrición proteica (Fournier y cols., 2016). Además, la suplementación con *Spirulina* tendió a disminuir los niveles circulantes del factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF-21) relacionándose este hallazgo con un aumento de la sensibilidad de los receptores hepáticos a la GH (Fournier y cols., 2016; Inagaki y cols., 2008). Aunque todos estos trabajos registraron aumentos en las concentraciones del IGF-1, solamente el realizado por Fournier y cols. (2016) proporcionó un posible mecanismo celular, en el que se involucró al FGF-21 como actor principal de dichos incrementos.

Por otra parte, en modelos *in vitro* se ha comprobado que la *Chlorella Vulgaris* aumenta la expresión del IGF-1R en mioblastos de músculo esquelético humano (Azlan y cols., 2019). El IGF-1R posee un rol fundamental en el desarrollo muscular ya que regula directamente la respuesta intracelular inducida por el IGF-1, el cual posee importantes efectos anabólicos. La activación de IGF-1R promueve el aumento de la expresión de los factores reguladores miogénicos (MRF) que controlan la miogénesis del músculo esquelético durante la regeneración del mismo (Azlan y cols., 2019). Además,

el IGF-1R activa dos vías de señalización primarias: en primer lugar, tras la unión con el ligando (IGF-1), el IGF-1R se autofosforila e induce la vía de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K)/Akt, involucrada en la diferenciación de mioblastos y el anabolismo proteico; en segundo lugar, el IGF-1R activa las quinasas de respuesta extracelular/Ras/Raf (ERKs) lo que desemboca en la activación de otras proteínas quinasas y factores de transcripción que inducen la proliferación de las células satélite musculares, ubicadas en el sarcolema y en la lámina basal muscular (Foti y cols., 2008; Machida y Booth, 2004a; O'Neill y cols., 2016). Todo esto sugiere que la microalga *Chlorella vulgaris* promueve la diferenciación de los mioblastos, así como el anabolismo muscular (Jaafar y cols., 2020; Azlan y cols., 2019).

Hasta la fecha no existen investigaciones que hayan valorado los efectos del consumo de TC sobre las concentraciones sanguíneas de IGF-1. No obstante, las variaciones del resto de hormonas, así como la composición bioquímica de la TC proporcionan sólidos fundamentos fisiológicos que podrían explicar los incrementos del IGF-1 registrados en esta investigación.

Uno de los posibles mecanismos que podrían explicar nuestros resultados radica en los incrementos de la TES registrados en los grupos suplementados con TC. Las complejidades de la regulación de las diferentes vías de señalización celular tras la activación de los receptores androgénicos involucran una gran cantidad de moléculas, como el IGF-1 que podría jugar un papel crucial en estas rutas metabólicas (Lewis, 2012). Existe un amplio cuerpo de evidencias científicas que han demostrado las relaciones entre la TES y el IGF-1 en modelos humanos (Wu y cols., 2007). El IGF-1 no solo se sintetiza en el hígado, también es producido por otros tejidos extrahepáticos, incluidos el músculo esquelético, las células satélite musculares y el testículo (Cannarella y cols., 2018; Philippou y cols., 2007; Sun y cols., 2006). En este sentido, se ha registrado que los andrógenos aumentan la expresión del ARNm del gen que codifica para la IGF-1 tanto en el tejido hepático como en los extrahepáticos (Kamanga-sollo y cols., 2004; Sahlin y cols., 1994; Urban y cols., 1995).

La testosterona actúa uniéndose al receptor de andrógenos (RA) y activándolo. Este receptor es un miembro de la subfamilia de receptores de hormonas esteroideas de receptores nucleares (Wu y cols., 2007). Los receptores de hormonas esteroideas son factores de transcripción que, tras su activación por el ligando, se unen a receptores *cis*, secuencias específicas del ADN llamadas elementos de respuesta a hormonas esteroideas

(ERH) (Roche y Hoare, 1992). Los ERH presentan unas secuencias de bases consenso que son reconocidas por los receptores de esteroides para llevar a cabo su unión. Sin embargo, se ha verificado que los sitios de unión de los andrógenos a menudo divergen de las anteriores secuencias consenso denominándose elementos de respuesta a andrógenos (ERA) (Claessens y cols., 2001). Esto otorga al RA la capacidad de llevar a cabo mecanismos de acción específicos en diversos genes diana (Claessens y cols., 2001; Nelson y cols., 1999).

En relación con lo anterior, el gen del IGF-1 se encuentra bajo un complejo sistema de control transcripcional en el que existen dos promotores alternativos, uno en el exón 1 y otro en el exón 2 (Shemer y cols., 1992; Wu y cols., 2007). Estos promotores se utilizan de manera específica según el tejido donde se encuentren (Shemer y cols., 1992). En el hígado y el riñón parece que se emplean ambos promotores. No obstante, en la mayoría de los demás tejidos solo se emplea el primer exón. En este aspecto, se ha demostrado que el exón 1 del gen IGF-1 presenta secuencias ERA en su promotor proximal, lo que explicaría la capacidad de respuesta a los andrógenos que presenta dicho gen (Wu y cols., 2007).

Por lo tanto, los aumentos de TES, verificados en este trabajo, han podido incrementar las concentraciones del IGF-1 a través de la activación de sus genes codificantes. No obstante, son necesarias investigaciones futuras para aclarar con precisión este posible mecanismo de acción.

Por otra parte, los incrementos de la EPO registrados en los grupos suplementados con TC también han podido influir en los aumentos del IGF-1. Ya en 1993, se demostró que la administración de EPO promovía la supervivencia de las neuronas colinérgicas septales en ratas adultas, por lo que se sugirió que la EPO podría constituir un factor neurotrófico (Konishi y cols., 1993). Posteriormente, ha surgido un gran cuerpo de evidencias que han confirmado los efectos neurotróficos de la EPO (Nagańska y cols., 2010; Yin y cols., 2010). Sin embargo, los mecanismos que subyacen a estos efectos siguen siendo poco investigados. En esta línea, Sun y cols. (2013) verificaron que la EPO administrada en dosis de 5000 U/kg promovía la regeneración del nervio ciático lesionado en ratas *Wistar* (Sun y cols., 2013). Estos mismos autores hallaron que la EPO indujo un incremento de la concentración de IGF-1 en el tejido nervioso, atribuyendo los efectos regenerativos de la EPO a la regulación positiva de la expresión del IGF-1. Más recientemente, Gyetvai y cols. (2017) a través de un modelo *in vitro* confirmaron los

anteriores hallazgos, demostrando que la EPO eleva específicamente los genes de las isoformas IGF-1 e IGF-2, lo cual explica los efectos promielinizantes y regenerativos de la EPO en el tejido nervioso (Gyetvai y cols., 2017).

Tal y como ocurre con una gran cantidad de hormonas, es posible que la EPO posea más de un tejido diana sobre el que promueva la expresión de los genes del IGF-1 (Hall, 2020). Por lo tanto, en la presente investigación, el aumento de las concentraciones del IGF-1 sanguíneo podría haber estado influido por los incrementos de la EPO registrados en los grupos suplementados.

Otras de las moléculas que han podido contribuir a los incrementos de la IGF-1, observados en nuestro estudio, las representan los AGPI presentes en la TC. En esta línea, Tran y cols. (2016) demostraron como enriqueciendo la dieta de búfalos macho con AGPI n-3 y n-6 se conseguía aumentar sus concentraciones séricas del IGF-1 y la TES (Tran y cols., 2016). En consonancia con estos resultados, existen evidencias de que los AGPI n-3 de la dieta pueden aumentar la expresión del IGF-1 muscular, así como su concentración sanguínea circulante en cerdos y novillos (Wei y cols., 2013).

Curiosamente, parece ser que los AGPI n-3 poseen preferencias por aumentar el ARNm del gen del IGF-1 ubicado intramuscularmente en comparación con el localizado en el hígado (Wei y cols., 2013). La explicación de esta regulación selectiva del IGF-1 mediada por los AGPI n-3 radica en la evidencia de que los AGPI n-3 incrementan la expresión del ARNm del transductor de señales y activador transcripcional 5A (STAT5A) muy presente en el músculo esquelético (Saprōkina y cols., 2009). El STAT5A constituye un mediador esencial para la expresión del IGF-1 en el músculo esquelético, y en menor medida, en el hígado (Paukku y Silvennoinen, 2004). Paralelamente a estos efectos, los AGPI n-3 modulan negativamente la expresión del ARNm muscular de la proteína de tirosina fosfatasa no receptora tipo 3 (PTPN3) que constituye un regulador negativo de la expresión del gen del IGF-1, por lo que promueve sus mecanismos de producción (Pilecka y cols., 2007; Wei y cols., 2013). Por otra parte, se ha evidenciado en modelos porcinos que los AGPI n-3 constituyen un ligando del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ), cuya estimulación puede desencadenar la transcripción del STAT5A e incrementar la expresión del IGF-1 (Olsen y Haldosén, 2006).

Las microalgas son microorganismos muy ricos en AGPI, concretamente en la TC cerca de la mitad de su composición lipídica la representan los AGPI y, entre estos, los

más predominantes son los AGPI n-3. Por lo tanto, según los posibles mecanismos de acción mediados por los AGPI n-3 anteriormente descritos y dada sus elevadas concentraciones en la TC parece razonable pensar que estos hayan podido contribuir en el incremento de las concentraciones sanguíneas del IGF-1 observadas en los grupos suplementados con TC.

También, se ha comprobado que los AGPI n-3 pueden inhibir la expresión del FGF-21 hepático (Eissa y cols., 2019). En el hígado, el FGF-21 reduce la actividad del STAT5, mermando las vías señalizadoras de la GH (Inagaki y cols., 2008). Esto implicaría efectos negativos sobre la expresión de los genes diana de la GH, incluyendo el IGF-1 (Nakagawa y cols., 2021). De esta manera, nuestros resultados sugieren que la TC podría aumentar la sensibilidad de la GH a través de una reducción de la expresión hepática de FGF-21, explicándose así los aumentos en las concentraciones del IGF-1 en los grupos suplementados. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones para aclarar este posible mecanismo de acción.

Por otra parte, recientemente Sharp y cols. (2021) han verificado disminuciones del Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y de la Interleucina uno beta (IL-1 β) en ratas suplementadas con TC y ejercitadas físicamente durante 6 semanas (Sharp y cols., 2021a). Ha sido ampliamente reconocido que las citocinas pro-inflamatorias bloquean la función y expresión del IGF-1 (DeBoer y cols., 2018). Concretamente, el TNF α se ha descrito como la principal citocina antagonista del IGF-1, pudiendo inhibir su señalización mediante la fosforilación y cambios conformacionales en el receptor de la insulina (IRS-1), por lo que el IGF-1 no podría llevar a cabo sus acciones celulares con eficacia (Bu y cols., 2020). Como consecuencia, tal vez la TC tenga un efecto beneficioso sobre el microambiente inflamatorio, favoreciendo la función y la síntesis de los genes que codifican para el IGF-1.

En cuanto a la TES, el GS 25 registró un aumento de sus concentraciones ($p < 0,05$) con respecto a las basales. Por otra parte, los incrementos de TES en el GS 200 no llegaron a la significación estadística ($p < 0,05$). Sin embargo, sí se verificaron diferencias significativas ($p < 0,05$) durante el mes 1 entre el GS 200 y el GP. Con respecto al GP, los valores de TES descendieron ($p < 0,05$) excepto en la evaluación final donde se recuperaron las concentraciones iniciales, probablemente debido a algún cambio en el estilo de vida de los participantes no detectado durante la investigación.

Mayada y cols. (2015) valoraron los efectos de la suplementación con *Spirulina platensis* sobre la espermatogénesis y la esteroidogénesis en ratas intoxicadas con cadmio (Farag y cols., 2016). Llegaron a la conclusión de que la suplementación con *Spirulina Platensis* incrementaba la expresión génica de las enzimas encargadas de la estereoidogénesis testicular reduciendo así los efectos nocivos del cadmio. Otros autores como Sikiru y cols. (2019) evaluaron los efectos de la ingesta de *Chlorella vulgaris* sobre el estrés oxidativo en conejos (Sikiru y cols., 2019). También, observaron una reducción de la peroxidación lipídica en el grupo suplementado, protegiéndose la función de las células de Leydig. Por ello, es probable que el gran potencial antioxidante de las microalgas pueda estar relacionado con una optimización de la estereoidogénesis (Azim y cols., 2018; Martin y Touaibia, 2020b)

En este sentido, la TC presenta una alta actividad de la enzima superóxido dismutasa (>30.000 U/g), así como una rica composición en carotenoides, mostrando una elevada capacidad antioxidante (Ashall y cols., 2017; Mantecón y cols., 2019; Ramírez y cols., 2020). Además, Ramirez y cols. (2020) examinaron *in vitro* la actividad antioxidante de la TC y observaron en mioblastos de músculo esquelético humano una inducción de la actividad enzimática antioxidante primaria, de la actividad de la superóxido dismutasa (SOD), de la glutatión peroxidasa y de la catalasa (Ramírez y cols., 2020).

El testículo es un órgano sometido a un intenso estrés oxidativo donde se han reportado altas concentraciones de SOD en comparación con otros tejidos (Mruk y cols., 2002). Las células germinales en desarrollo, además de sufrir potentes cambios citológicos, tienen que migrar hacia el compartimento luminal del epitelio seminífero, lo cual requiere de grandes cantidades de energía y la consecuente formación de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (RNS) (Darbandi y cols., 2018; Mruk y cols., 2002).

Las grandes cantidades de mitocondrias presentes en los espermatozoides junto con los procesos de estereoidogénesis desarrollados en las células de Leydig potencian aún más la formación de EROs (Darbandi y cols., 2018). Estas células constituyen la principal fuente de TES, siendo muy vulnerables a los tóxicos y, especialmente, a los inducidos por las EROs (Riris y cols., 2021). Consecuentemente, es probable que los aumentos registrados de TES en los grupos suplementados se hayan debido a un efecto citoprotector de la TC ejercido sobre las células de Leydig, que ha optimizado los mecanismos antioxidantes testiculares y, por ende, el funcionamiento de las enzimas estereoidogénicas.

Otro de los mecanismos que podrían explicar los aumentos de TES observados se fundamenta en las vías de acción de los flavonoides. Los flavonoides son un grupo importante de metabolitos secundarios en plantas terrestres (Goiris y cols., 2014). Estos están involucrados en varios procesos que van desde la protección ultra violeta hasta la señalización celular y la pigmentación (Falcone y cols., 2012). Los flavonoides forman un gran grupo heterogéneo de componentes, los cuales derivan de un precursor de chalcona común (cetona aromática). A su vez, estas chalconas se originan a partir del producto final de la ruta de los fenilpropanoides (Falcone y cols., 2012; Goiris y cols., 2014). El primero de los pasos bioquímicos limitantes en la biosíntesis de flavonoides es aquel en el que interviene la enzima chalcona sintasa para formar una chalcona a partir de la agregación de tres unidades de acetato a la p-cumaroil-Coenzima A (Goiris y cols., 2014). Posteriormente, una gran variedad de enzimas actúan sobre la chalcona ya formada. Entre ellas, se incluyen las isomerasas, las reductasas, las glucosiltransferasas, las hidroxilasas y las aciltransferasas, produciéndose diferentes subclases de flavonoides como las flavonas, las flavononas, los isoflavonoides, los flavonoles, las catequinas y las antocianidinas (Panche y cols., 2016).

Al tener una estructura química similar al colesterol y otros esteroides, los flavonoides pueden influir en la producción de andrógenos en las células de Leydig (Martin y Touaibia, 2020b). Desde la década de 1960 gran cantidad de investigadores se han interesado por estudiar los efectos de diferentes flavonoides en la producción de la TES, construyéndose un gran cuerpo de evidencias científicas (Couture y cols., 2020; Manna y cols., 2002). En función de la composición del flavonoide existen diferentes mecanismos de acción celulares.

Las flavonas, principalmente la luteolina, la crisina y la apigenina han mostrado la capacidad de estimular la expresión de diferentes genes que codifican para los procesos estereidogénicos. Entre ellos, destacan el gen de la proteína reguladora aguda estereidogénica (StAR), el gen de la enzima CYP11A1, y el gen de la ferredoxina (Cormier y cols., 2018). La StAR forma parte de un complejo de proteína transportadora crucial para la translocación del colesterol citoplasmático a la membrana mitocondrial interna de las células de Leydig (Stocco y Clark, 1996). Por otra parte, la enzima CYP11A1 escinde la cadena lateral del colesterol formando pregnenolona para que pueda comenzar la esteridogénesis y en cuya reacción también interviene la ferredoxina (Chien y cols., 2017). Parece ser que uno de los mecanismos de acción más respaldados por el

que se llevan a cabo estos efectos lo constituye la inhibición de la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX 2) (Ha y cols., 2010). Se ha observado que un aumento de la COX 2 se asocia con una disminución de la expresión de StAR, inhibiendo así la entrada de colesterol a la mitocondria y todo el resto del proceso estereidogénico, lo cual se traduce en decrementos observados de la concentración sanguínea de TES en varones que envejecen (Wang y cols., 2005). Igualmente, diferentes trabajos han registrado que ciertos tipos de flavonas, como la crisina, actúan como potentes inhibidores de la enzima aromataasa, que convierte la TES en estradiol (Kellis y Vickery, 1984). Debido a todas estas acciones, se ha evidenciado que el consumo de flavonas puede potenciar la producción de TES, observándose aumentos de las concentraciones séricas de TES, de más del 35%, en ratas macho adultas tras la suplementación con crisina (Ciftci y cols., 2012).

Los flavonoles, especialmente la quercetina, han sido bien documentados por sus efectos positivos sobre la función testicular y la estereidogénesis (Cormier y cols., 2018). En este aspecto, existen observaciones de que tratamientos de células MA-10 Leydig con 10 μ M de quercetina dan como resultado un aumento de las expresiones de StAR, de CYP11A1 y de ferredoxina, lo que contribuye a un aumento de la estereidogénesis (Cormier y cols., 2017). Se ha establecido que uno de los principales mecanismos de acción de los flavonoles radica en su potencial antioxidante y en la mejora de la actividad transcripcional de la proteína 1 de unión a elementos sensibles a AMP cíclico (CREB1) (Cormier y cols., 2017). El CREB1 es un importante activador de la expresión del gen que codifica para la StAR en las células de Leydig, lo que podría explicar el potencial estereidogénico de los flavonoles (Carlezon y cols., 2005; Cormier y cols., 2018). De acuerdo con estos mecanismos de acción, recientemente se ha demostrado que la rutina, una quercetina glucosilada, revierte la disminución de las concentraciones séricas de TES en ratas macho inducidas por tetracloruro de carbono (Elsawy y cols., 2019).

Las catequinas, otro tipo de flavonoides, han mostrado en ratas macho que pueden aumentar las concentraciones séricas de TES después de transcurridas solamente 8 horas desde su administración, sensibilizando fuertemente las células de Leydig a la estimulación por la gonadotropina coriónica humana (Yu y cols., 2010). Además, la administración oral de catequinas en ratas macho ha mostrado una potente actividad inhibidora de la aromataasa (Satoh y cols., 2002). Igualmente, el suministro parenteral de

catequinas y de sus derivados también han demostrado incrementar las concentraciones plasmáticas de TES (Cormier y cols., 2018; Yu y cols., 2010).

Con relación a las antocianidinas, no han sido investigadas especialmente por su potencial para regular la producción androgénica, aunque ya es bien conocido que pueden inhibir la actividad de la COX 2, modulando positivamente la función de StAR en las células de Leydig (He y cols., 2017; Ma y cols., 2015). Igualmente, se ha informado que la cianidina-3-glucósido, un derivado de la antocianidinas, mejora los niveles de expresión de proteínas estereoidogénicas como la StAR, la CYP11A1, así como del receptor de hormona luteinizante (LH) dentro de los testículos de ratones expuestos a cadmio, un importante disruptor neuroendocrino (Li y cols., 2019). Por lo tanto, las antocianidinas pueden promover la producción de TES a través de diferentes mecanismos.

Aunque la gran mayoría de flavonoides estudiados posean fuertes actividades androgénicas, existen otros que pueden llegar a mermar el sistema estereoidogénico productor de andrógenos. Este es el caso de los polifenoles, muy presentes en el té, y de algunas isoflavonas (Figueiroa y cols., 2009). Ha sido establecido por diferentes autores que dichas moléculas poseen efectos fitoestrogénicos, aumentando las concentraciones de la enzima aromatasa e inhibiendo los procesos estereoidogénicos de las células de Leydig (Cormier y cols., 2018; Figueiroa y cols., 2009).

Hasta hace relativamente poco, se consideraba que las microalgas y las cianobacterias no contenían enzimas de síntesis de flavonoides. Sin embargo, diferentes trabajos han hallado genes pertenecientes a la vía de los flavonoides en microalgas, incluidas la chalcona isomerasa y la isoflavona reductasa (Goiris y cols., 2014). Aunque la evidencia sobre la composición de los tipos de flavonoides en microalgas es escasa, es bien conocido que dichos microorganismos son fuentes ricas en flavonoides (Del Mondo y cols., 2021; Monteiro y cols., 2020; Scholz y cols., 2006; Yadavalli y cols., 2022). En este sentido, recientemente se ha descrito en la bibliografía científica que las especies de *Tetraselmis sp.* contienen flavonoides en su composición (Sampathkumar y cols., 2018). Sin embargo, aún no se conoce de forma precisa la distribución de los tipos de flavonoides que componen la TC. Por ello, en función de los flavonoides predominantes la TC podría poseer diferentes mecanismos de acción moleculares que contribuyan a desencadenar algunos efectos androgénicos, observados en nuestro estudio. A la vista de los incrementos de la TES, registrados en los grupos suplementados, creemos que el espectro

de flavonoides contenido en la TC tal vez sea predominantemente estimulador de la estereidogénesis, en contraposición a los flavonoides fitoestrogénicos.

Los AGPI n-3 también han mostrado relación con la síntesis androgénica. Algunos trabajos preclínicos sugieren que los AGPI n-3 de la dieta pueden aumentar las concentraciones de TES plasmática (Sibbons y cols., 2014). En relación con esto, Zaima y cols. (2016), demostraron que el consumo de aceite de pescado, rico en AGPI n-3, aumentó la TES sérica en un modelo murino, lo cual se relacionó con el aumento del contenido de ácido eicosapentaenoico (EPA), perteneciente a la serie de AGPI n-3, en el líquido intersticial testicular (Zaima y cols., 2016). Existen algunas evidencias que postulan que la incorporación de AGPI n-3 en las membranas plasmáticas de las células testiculares aumenta la capacidad de respuesta de los receptores de gonadotropina en las células de Leydig, lo que conllevaría probablemente a un incremento de la síntesis de TES debido a la sensibilización de la LH (Sebokova y cols., 1990).

Otro mecanismo alternativo propuesto y mediado por los AGPI n-3 consiste en la posible inhibición de la aromatasas (Subbaramaiah y cols., 2012). Ha sido bien establecido que la actividad de la aromatasas puede inhibirse por los agonistas del receptor PPAR- γ , que suprimen la transcripción génica de dicha enzima (Grygiel-Górniak, 2014). Consecuentemente, se ha verificado que los AGPI n-3 constituyen ligandos naturales para los receptores PPAR- γ , por lo que la inhibición de la aromatasas mediada por los AGPI n-3 podría ser biológicamente plausible (Abbott y cols., 2020; Grygiel-Górniak, 2014; Subbaramaiah y cols., 2012).

Todos estos mecanismos teóricos y evidenciados sobre modelos animales, concuerdan plenamente con los recientes hallazgos de Abbot y cols. (2020), que demostraron que la suplementación dietética con aceite de pescado rico en AGPI n-3 puede aumentar las concentraciones circulantes de TES en hombres obesos y con sobrepeso (Abbott y cols., 2020). Curiosamente, los cambios en las concentraciones de TES se correlacionaron inversamente con el contenido de AGPI n-6.

Como ya se ha detallado en anteriores párrafos, la TC contiene una privilegiada composición en AGPI, predominando los AGPI n-3. Por lo tanto, las diferentes funciones biológicas de estos compuestos lipídicos podrían influir en la promoción de la síntesis estereidogénica. Así, cabe la posibilidad de que parte de los aumentos de la TES se deban a los efectos de los AGPI n-3, tal y como se observa en la presente tesis doctoral.

Con respecto al cortisol sus niveles se mantuvieron estables a lo largo de todo el periodo experimental tanto en el GS 25 como en el GS 200. Excepcionalmente, en el GP aumentaron las concentraciones de C ($p < 0.05$), tras la desadaptación, en comparación con los niveles iniciales y con los del mes 1. Para interpretar estos resultados de manera precisa, es importante señalar que los participantes realizaron las dos últimas evaluaciones en períodos académicos muy exigentes. En este contexto, las elevaciones basales de C han sido ampliamente identificadas en la bibliografía como mecanismo adaptativo al estrés psico-fisiológico (Cay y cols., 2018). Considerando el contexto académico de las evaluaciones, esto podría ser una explicación de los resultados obtenidos en el GP.

Lee y cols. (2019) verificaron en cerdos que la suplementación con microalgas disminuía los niveles de C en comparación con la suplementación de aceite de pescado (Lee y cols., 2019). Estos autores concluyeron que esta disminución podía deberse al contenido y al tipo de perfil de los AGPI n-3 presentes en las microalgas. Esto coincide con los hallazgos de Robertson y cols. (2017) que comprobaron los efectos de la suplementación con AGPI n-3 en ratones hembra sobre la secreción de corticosterona, registrando una disminución de sus concentraciones (Robertson y cols., 2017).

El C es una hormona esteroidea que se sintetiza a partir del colesterol en la zona fascicular de la corteza suprarrenal (Thau y cols., 2021). La hormona adrenocorticotrófica (ACTH), liberada por la hipófisis anterior, funciona para aumentar los receptores de LDL y aumentar la actividad de la colesterol desmolasa que convierte el colesterol en pregnenolona, cuyo proceso constituye el paso limitante de la biosíntesis de C (Hall, 2020; Thau y cols., 2021). Varias enzimas esteroideogénicas clave se localizan en el retículo endoplasmático y, a menudo, se encuentran estrechamente unidas a la membrana de la organela (Björntorp y Rosmond, 2000; Nguyen y Conley, 2008). Las enzimas P450 esteroideogénicas suprarrenales son las pertenecientes al citocromo P450 y destacan la CYP21, la CYP19 (aromatasa) y la CYP17. Tanto la CYP 21 como la CYP17 son indispensables para la esteroideogénesis convencional (Hall, 2020; Hille y cols., 2011; Yamamoto y cols., 2000).

En este aspecto, se ha reportado que los AGPI n-3 y n-6 poseen la capacidad de inhibir muchas de las enzimas CYP metabolizadoras de fármacos humanos (Starling y cols., 1995; Yang y cols., 2011). Sin embargo, los trabajos que revisan las acciones directas que los AGPI pueden tener sobre las enzimas esteroideogénicas suprarrenales son escasos. El

principal estudio realizado en esta área fue el llevado a cabo por Xie y cols. (2016). Estos autores, a través de un modelo porcino *in vitro*, observaron que los AGPI n-3 y n-6 podían inhibir la actividad de las enzimas esteroideogénicas suprarrenales implicadas en la producción de cortisol, especialmente de la CYP17 y la CYP21, desencadenando disminuciones importantes de las concentraciones de cortisol detectadas (Xie y cols., 2016). Este trabajo demostró que los AGPI con 2 o más dobles enlaces inhibieron las enzimas esteroideogénicas P450 en un grado mucho mayor que aquellos AG sin dobles enlaces.

Uno de los mecanismos que podría explicar estos hallazgos se basa en las concentraciones críticas de micelas (CCM) de los ácidos grasos, las cuales son un concepto que hace referencia a las concentraciones por encima de las que se produce espontáneamente la agregación de lípidos y se forman micelas (Al-Soufi y Novo, 2021; Serth y cols., 1991). En este aspecto, se ha considerado que los AGPI pueden inhibir la esteroideogénesis suprarrenal ensamblando micelas lipídicas, formando complejos micelares con enzimas esteroideogénicas e inhibiendo la función de las enzimas captadas por las micelas (Serth y cols., 1991; Xie y cols., 2016). Existen evidencias de que las micelas lipídicas pueden interactuar con diversas moléculas de carácter enzimático uniéndose a sus dominios C-terminales (Serth y cols., 1991). No obstante, aunque biológicamente este mecanismo sea posible, hasta donde se conoce no existen datos sobre las concentraciones que los AGPI pueden alcanzar en el tejido suprarrenal tras su ingesta oral. Por lo tanto, actualmente no se sabe con precisión si dichos AGPI adquieren valores de CCM suficientes como para inhibir las diversas enzimas esteroideogénicas suprarrenales pero este posible mecanismo debe tenerse en consideración para interpretar los resultados de esta investigación.

Curiosamente, existen evidencias de que los AGPI n-3 no alteran las actividades de las enzimas esteroideogénicas que se ubican en el interior de la luz del retículo endoplasmático (Bublitz y Steavenson, 1988; Odermatt y cols., 1999; Ozols, 1995). Por ello, se ha postulado que es probable que el efecto inhibitorio de los AGPI n-3 y n-6 sobre las actividades de las enzimas esteroideogénicas P450 dependa en parte de la localización de dichas enzimas, siendo más afectadas las situadas en las membranas de las organelas (Xie y cols., 2016).

De acuerdo con los posibles efectos de los AGPI sobre las enzimas esteroideogénicas suprarrenales, la privilegiada composición de TC en estos compuestos lipídicos podría

explicar el mayor grado de control de las concentraciones de C que se observaron en los grupos suplementados con TC ante el posible estrés académico del GS 25 y del GS200, hecho que no ocurrió en el GP.

Además, se ha demostrado que diversos compuestos alimenticios de carácter lipofílico podrían alcanzar el tejido nervioso central, concretamente el hipotálamo, donde pueden regular diferentes vías de señalización celular implicadas en la producción de las hormonas liberadoras (Aragonès y cols., 2016; Landrier y cols., 2012; Mounien y cols., 2019). En este aspecto, se han detectado varios compuestos carotenoides en diferentes partes del cerebro adulto (Craft y cols., 2004; Johnson y cols., 2013). En el estudio realizado por Johnson y cols. (2013) se cuantificaron cantidades importantes de licopeno, caroteno, luteína y zeaxantina en diferentes estructuras encefálicas como el cerebelo, la corteza temporal, la corteza occipital y la corteza frontal. Esta presencia de carotenoides en el sistema nervioso central ha llevado a la idea de que podrían atravesar los capilares fenestrados de los órganos circunventriculares o la barrera hematoencefálica, depositándose, posteriormente, en el tejido nervioso donde llevan a cabo sus efectos (Johnson y cols., 2013; Mounien y cols., 2019).

Ya existen algunas evidencias de que los carotenoides pueden modular la producción de la leptina hipotalámica y regular los centros encefálicos de control del hambre (Mounien y cols., 2019). En la línea de estas observaciones, un trabajo reciente realizado por Zhao y cols. (2017), sugiere que la fucoxantina puede modificar la neuroinflamación, a través de un aumento de la activación del factor nuclear derivado de eritroide 2 (Nrf2) en la microglía (Zhao y cols., 2017). El Nrf2 posee un papel central en la actividad basal y en la inducción coordinada de más de 250 genes, incluidos los que codifican las enzimas antioxidantes como la catalasa, la SOD, la glutatión peroxidasa y la quinona oxidoreductasa-1 (Ruiz y cols., 2013). Consecuentemente, la inducción de Nrf2 contribuye significativamente a contrarrestar el estrés oxidativo, que está altamente implicado en los procesos de neuroinflamación (Mounien y cols., 2019; Ruiz y cols., 2013).

También, se ha apreciado que la fucoxantina puede inducir descensos de diferentes citocinas pro-inflamatorias en el hipocampo y en el hipotálamo a través de la regulación de la vía de señalización AMPK-NF-Kb (Jiang y cols., 2019). El sistema de señalización NF-Kb es una de las principales vías que interviene en la activación de los sistemas inmunitarios innatos y adaptativos, mediante una clara actividad pro-inflamatoria

(Nikolaia López y Bojorquez, 2004). Numerosos estudios han demostrado que el aumento de la expresión de AMPK regula a la baja el sistema NF-kB induciendo efectos antiinflamatorios (Jiang y cols., 2019; Salt y Palmer, 2012).

La neuroinflamación es un término utilizado para describir la amplia gama de respuestas inmunitarias del sistema nervioso central y se diferencia de la inflamación periférica en varios aspectos, principalmente en los relacionados con la microglía y los astrocitos que son células exclusivas del tejido nervioso (Furtado y Katzman, 2015). Se ha comprobado que la neuroinflamación posee un papel central en la patología común de enfermedades y trastornos mentales, como la ansiedad y la depresión (Benedetti y cols., 2020; Campos y cols., 2020; Hurley y Tizabi, 2013; Kim y Jeon, 2018; Troubat y cols., 2021). De acuerdo con esta idea, durante algunos episodios de estrés psicológico se han observado elevaciones de las citocinas pro-inflamatorias IL-6 y TNF α , demostrándose que ambas participan en la estimulación de la CRH produciendo hipercortisolemia (Furtado y Katzman, 2015). A su vez, esta hiperreactividad resultante del eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal desencadena los síntomas ligados al estrés psicológico como cambios en el apetito, incrementos de la fatiga, dificultades para dormir y disminución de la actividad física (Benedetti y cols., 2020; Hurley y Tizabi, 2013; Troubat y cols., 2021).

Todos los individuos que participaron en este trabajo estaban sometidos a una notable presión académica que pudo elevar los niveles de estrés psicológico de nuestra muestra, debido a las fechas del calendario académico en las que se realizaron las evaluaciones finales del presente trabajo. El estrés psicológico puede vincularse estrechamente con la neuroinflamación, lo cual podría correlacionarse con los aumentos significativos de las concentraciones de C registradas en el GP durante el período de desadaptación mientras que, en los grupos suplementados, curiosamente, no se produjeron estos aumentos.

Se ha verificado recientemente que las especies del género *Tetraselmis* contienen fucoxantina en su composición (Haoujar y cols., 2019). De acuerdo con los anteriores hallazgos, la fucoxantina y otros carotenoides presentes en la TC han podido actuar suprimiendo ciertos parámetros inflamatorios del tejido nervioso en los grupos suplementados, facilitando el mantenimiento de sus concentraciones sanguíneas de C. Este hecho podría contribuir a la explicación de nuestros hallazgos.

Por otra parte, existen datos contradictorios sobre los potenciales efectos del IGF-1 en la producción de C (Agha y Monson, 2007). De esta forma, Roy y cols (2000)

observaron en modelos bovinos que el IGF-1 aumentaba la producción aguda de C en las células suprarrenales en función del tiempo (Roy y cols., 2000). Por el contrario, diferentes estudios sugieren que el aumento agudo del IGF-1 inhibe tanto la producción de GH como la de C en animales (Schleim y cols., 1999). Además, se ha observado en varias investigaciones realizadas con sujetos humanos que la administración de IGF-1 recombinante no altera las concentraciones de ACTH ni las de C (Gianotti y cols., 2014). Sin embargo, otros trabajos han demostrado que la activación del eje GH-IGF-1 puede influir en la producción del C regulándola negativamente (Weaver y cols., 1994). En este sentido, se ha postulado que la estimulación del eje GH-IGF-1 modifica la regulación glucocorticoidea a niveles periféricos (Agha y Monson, 2007). En un primer momento, uno de los mecanismos por los que se produce esta regulación negativa se asoció con la reducción de la globulina transportadora del cortisol mediada por la activación del eje GH-IGF-1, lo cual desencadena una disminución de las concentraciones del C circulante (Rodríguez-Arno y cols., 1996; Weaver y cols., 1994). Más tarde, se ha establecido que el mecanismo inhibitorio predominante consiste en la reducción de la actividad de la 11β -hidroxi-esteroide deshidrogenasa tipo 1 (11β -HED) provocado tanto por la GH como por el IGF-1 (Liu y cols., 1996; Low y cols., 1994; Moore y cols., 1999; Tomlinson y cols., 2001). La 11β -HED es muy ubicua, pues se encuentra en múltiples compartimentos vinculados con el metabolismo energético como el tejido adiposo, el tejido muscular, el tejido subcutáneo y el páncreas (Ricketts y cols., 1998). Diversos estudios en humanos y en animales, a través de la infusión de C tetra-marcado con deuterio, han comprobado que más de la mitad de la síntesis diaria de C se produce gracias a la transformación de la cortisona inactiva en C por la 11β -HED, es decir, es posible que más del 50% del C producido en condiciones normales sea de origen extra-suprarrenal (Fernández y cols., 2011).

Tal es el efecto global de la 11β -HED sobre la producción de C que un gran cuerpo de evidencias científicas en humanos la han vinculado con el síndrome metabólico, en el que el C juega un rol patológico fundamental (Basu y cols., 2006, 2009; Cooper y Stewart, 2009; Morton, 2010). Esto se ha corroborado mediante diferentes trabajos en humanos donde se administraron inhibidores de la 11β -HED observándose mejoras en el control lipídico y en el control glucémico de las personas que padecían diabetes mellitus tipo 2 (Rosenstock y cols., 2010). Otros de los hallazgos que confirman lo anterior son las disminuciones drásticas de los glucocorticoides verificadas en ratones *knock out*, a los

que se les manipuló genéticamente para eliminar el gen que codifica para la 11 β -HED (Lavery y cols., 2006).

Así, en la presente investigación, debido tanto a los importantes incrementos del IGF-1 que experimentaron los grupos suplementados con TC como a su mayor grado de control de las elevaciones de C, podría ser lógico pensar en la existencia de algún tipo de relación inhibitoria mediada por el IGF-1 con respecto a la biosíntesis del C periférico.

En cuanto a la GH, se observaron disminuciones ($p < 0,05$) tanto en el GP como en el GS 200 durante la desadaptación con respecto a los valores iniciales. Los resultados obtenidos en el GP podrían fundamentarse en el incremento paralelo de sus valores de C ($p < 0,05$). En este aspecto, se conoce que los aumentos crónicos de los niveles de glucocorticoides suprimen la secreción hipofisaria de GH (Mazziotti y Giustina, 2013). Por otra parte, es interesante apreciar que en los grupos suplementados los niveles de la GH disminuyeron tras la desadaptación con respecto a los valores basales. Estos cambios pueden asociarse a la, ampliamente descrita, retroalimentación negativa sobre la hipófisis que puede ser causada por el fuerte incremento de las concentraciones del IGF-1 en los grupos suplementados con TC (Al-Samerria y cols., 2021). Como consecuencia, estos resultados muestran indicios de que la TC probablemente posea un efecto específico directo sobre la secreción del IGF-1 sin afectar a los sistemas de producción de la GH.

Con referencia a la DHEA, sus concentraciones aumentaron durante la desadaptación destacando las siguientes significancias: en el GS 25 se incrementaron ($p < 0,05$) en comparación con los valores basales y en el GP se registraron diferencias intergrupales ($p < 0,05$) con respecto al GS 25 durante el mes 2. En muy pocos trabajos se han evaluado los efectos de la ingesta de microalgas sobre la DHEA. Chiu y cols. (2021) en un ensayo clínico aleatorizado a doble ciego, observaron aumentos de la DHEA relacionados con la ingesta de una bebida con extracto de *Chlorella pyrenoidosa* en 44 participantes sanos (Chiu y cols., 2021). Hasta donde se sabe, este es el único estudio que evalúa los posibles efectos de una microalga sobre esta hormona en un organismo humano. Consideramos que en el presente trabajo no se apreciaron efectos evidentes del consumo de TC sobre la DHEA. Por lo tanto, son necesarias más investigaciones para aclarar estas relaciones.

En definitiva, considerando el análisis de los anteriores resultados, el consumo de TC en humanos podría producir un entorno fisiológicamente anabólico, debido, especialmente, a la elevación de algunas hormonas como la IGF-1, la TES y la EPO que

poseen mecanismos de acción con fuertes efectos regeneradores y biosintéticos. Además, esta microalga puede ayudar a controlar el microambiente catabólico modulando la producción de C periférico. Hasta donde conocemos, este es el primer estudio que ha evaluado los efectos hormonales asociados al consumo de TC. Por ello, los resultados obtenidos constituyen datos preliminares que podrían establecer futuras líneas de investigación, con la finalidad de confirmar los presentes hallazgos y de aclarar exactamente cuáles son los mecanismos de acción utilizados por la TC.

Como ya se ha detallado en la introducción, las hormonas constituyen importantes mensajeros celulares que permiten la comunicación entre todos los compartimentos biológicos del organismo. Las variaciones hormonales registradas en el presente trabajo, debido a las importantes funciones que estas llevan a cabo, constituyen una de las bases fisiológicas más sólidas en las que se pueden fundamentar las explicaciones de los efectos de la TC sobre el resto de los parámetros analizados en esta investigación.

A continuación, se discuten y se analizan los resultados obtenidos pertenecientes a la serie roja y a la serie blanca sanguínea a través de diferentes secciones.

3.1.2. PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL HEMOGRAMA: SERIE ROJA.

En este apartado se expone el análisis y la discusión de los resultados obtenidos relacionados con la serie roja hematológica. La tabla 13 ilustra los valores de la serie roja sanguínea de los participantes a lo largo de la investigación.

Con relación al análisis de los resultados, en el GS 25 y en el GS 200 se pueden apreciar diversas disminuciones significativas. La primera de ellas se observó en el hematocrito ($p < 0,05$) tras la desadaptación, con respecto a los dos primeros meses y en los niveles de HCM ($p < 0,05$) tras la última evaluación, en comparación con los niveles iniciales. Posteriormente, en el GS 25 y en el GS 200 se registró un incremento de HCM ($p < 0,05$) durante la desadaptación, con respecto a los meses 1 y 2. Por otra parte, en el GP aumentaron significativamente los valores del VCM ($p < 0,05$) tras los dos primeros meses, con relación a los niveles basales. Más tarde, en la desadaptación, se verificó un descenso significativo ($p < 0,05$) de dicha variable, en comparación con el mes 2. Además, en el GP se detectó una disminución significativa de los niveles de HCM ($p < 0,05$) tras el mes 1, con respecto a los valores basales.

Tabla 13. Valores de la serie roja sanguínea a lo largo del período experimental.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Hematíes (millones)	Basal	5,22±0,64	5,21±0,55	5,05±0,45
	Mes 1	5,06±0,29	5,24±0,54	5,11±0,27
	Mes 2	5,07±0,21	5,29±0,80	5,15±0,32
	Desadaptación	5,06±0,22	5,19±0,6	5,06±0,26
Hemoglobina (gr %)	Basal	15,68±1,73	15,05±1,31	15,14±1,37
	Mes 1	15,07±0,73	14,95±1,71	14,97±0,67
	Mes 2	15,20±0,73	14,98±1,52	15,05±0,57
	Desadaptación	15,20±0,73	15,01±1,52	15,14±0,67
Hematocrito (%)	Basal	46,31±5,48	45,07±3,51	45,26±4,25
	Mes 1	45,31±3,43	45,59±4,27	45,84±2,34
	Mes 2	45,47±2,71	45,79±3,34	46,22±2,33
	Desadaptación	44,63±3,15	44,16±3,23^{μ#}	44,39±2,64^{μ#}
VCM (fL)	Basal	87,07±4,05	85,42±9,02	87,93±3,83
	Mes 1	87,68±4,11[#]	85,77±9,01	87,93±4,30
	Mes 2	87,84±4,16^Ω	85,68±9,28	87,73±4,37
	Desadaptación	86,65±4,01 [#]	84,58±9,42	86,09±4,15^μ
HCM (Pg)	Basal	29,52±1,49	28,61±3,75	29,41±1,15
	Mes 1	29,19±1,27[#]	28,13±3,56[#]	28,73±1,6[#]
	Mes 2	29,36±1,25	28,02±3,51^Ω	28,58±1,27^Ω
	Desadaptación	29,50±1,54	28,8±3,45^{μ#}	29,39±1,34^{μ#}

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; VCM: volume corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. [#] p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; ^μ p < 0,05 desadaptación vs, mes 1; ^Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal.

Antes de la realización de la presente tesis doctoral, nuestro equipo de investigación desarrolló una primera línea de trabajo con la TC, donde se evaluaron los posibles efectos de su consumo en futbolistas (Toro y cols., 2020). En la citada investigación se observaron incrementos altamente significativos (p<0,01) de las concentraciones de hemoglobina en el grupo suplementado con TC. Sorprendentemente, el aumento significativo (p<0,05) de las concentraciones de EPO observado en el presente trabajo concuerda con los hallazgos evidenciados anteriormente por nuestro grupo de investigación, complementando así los resultados previos y aportando una explicación fisiológicamente plausible de los posibles efectos eritropoyéticos de la TC.

Contra todo pronóstico, las concentraciones de hemoglobina permanecieron inalteradas durante los sesenta días de suplementación en los dos grupos que ingirieron TC. Sin embargo, los niveles del hematocrito siguieron una tendencia ascendente durante los dos primeros meses en los grupos suplementados. Posteriormente, tras treinta días sin suplementarse, cayeron los valores de dicho parámetro significativamente (p < 0,05) tanto en el GS 25 como en el GS 200. Se observó que, tras el cese repentino de la

suplementación con TC, el hematocrito no volvió a los niveles iniciales, pero se mantuvo en rangos normales. Estos hechos resultan muy llamativos y podrían indicar que la suplementación con TC influye sobre el sistema eritropoyético a través de diferentes vías que no solo involucran a la EPO.

Como ya se ha mencionado, en nuestro caso, los aumentos significativos ($p < 0,05$) de la EPO no coinciden con incrementos de la hemoglobina. Este fenómeno puede ser explicado desde distintos puntos de vista.

En primer lugar, se ha evidenciado que la deficiencia de hierro puede causar una respuesta débil al tratamiento con eritropoyetina recombinante humana (rHuEPO) (Elliott y cols., 2009). Existen grandes requerimientos de hierro en los progenitores eritroides estimulados por la EPO (Rivella, 2019). Por ello, es de vital importancia que los niveles de ferritina sérica y la saturación de la transferrina sean óptimos en el momento de iniciar el tratamiento tanto con rHuEPO como con agentes estimulantes de la EPO (Eschbach, 2005). Dado que en la actualidad las deficiencias de hierro constituyen un problema importante en todo el mundo (Pasricha y cols., 2021), puede considerarse que los participantes de esta investigación no consumían cantidades óptimas de hierro en sus dietas, explicando así los resultados obtenidos. En el trabajo realizado por Toro y cols. (2020) se verificaron mejoras consistentes de la hemoglobina tras la suplementación con TC (Toro y cols., 2020). Sin embargo, en dicho estudio el protocolo de suplementación se aplicó en deportistas, donde la ingesta normal de hierro y otros nutrientes suele estar controlada (Nurwanti y cols., 2018). De este modo, sugerimos que para futuras investigaciones sería interesante controlar los niveles de micronutrientes ingeridos diariamente, especialmente los relacionados con la eritropoyesis, como son el hierro y las vitaminas del complejo B. Igualmente sería importante analizar la evolución de los niveles de ferritina, el índice de saturación de la transferrina y la concentración de reticulocitos.

En segundo lugar, los aumentos de la EPO sin efectos sobre la serie roja también podrían explicarse considerando el posible aumento del estrés oxidativo que conllevan los procesos biosintéticos medulares (Ghaffari, 2010). Como ya se ha detallado durante la introducción de este trabajo, los componentes bioquímicos de las microalgas pueden ejercer efectos notables sobre los procesos de estrés oxidativo a los que se ve sometido el organismo humano. En este aspecto, las células hematopoyéticas, debido a diversas carencias de sus sistemas antioxidantes y a su alta actividad fisiológica, parecen ser

particularmente vulnerables al ataque de las ERO (Zhao y cols., 2016). Por lo tanto, la capacidad antioxidante que poseen las microalgas podría influir en los procesos biosintéticos desarrollados en la médula ósea, favoreciendo los eritropoyéticos, entre otros muchos procesos (Ashall y cols., 2017).

La regulación del estrés oxidativo es especialmente importante durante la eritropoyesis. Los precursores eritroides sintetizan y acumulan hemoglobina a medida que maduran (Moraleda, 2017). Este hecho, junto con las altas tasas replicativas y la acumulación de hierro en las mitocondrias de los precursores eritroides para llevar a cabo sus funciones, proporciona todos los ingredientes bioquímicos necesarios para la aparición de la reacción de Fenton, que consiste en una generación catalítica de ERO a partir de la presencia de iones ferrosos o férricos y del peróxido de hidrógeno (Silvestri y Nai, 2021).

Los progenitores eritroides van adquiriendo daño oxidativo a medida que van diferenciándose (Zhao y cols., 2016). Curiosamente, se ha evidenciado que la unión de la EPO a sus receptores en los progenitores eritroides induce altos niveles de estrés oxidativo (Ghaffari, 2010). Esto es debido principalmente a la estimulación de la maquinaria replicativa celular y al aumento de la expresión de los receptores CD71 de la transferrina que fomentan la captación de hierro por el precursor eritroide, lo que favorece la aparición de las reacciones Fenton (Moraleda, 2017; Zhao y cols., 2016). Paradójicamente, las ERO inducidas por la EPO pueden afectar negativamente a la enucleación de los proeritroblastos en las últimas etapas de la eritropoyesis (Zhao y cols., 2016). Esto sugiere que elevaciones de la EPO en ausencia de una correcta regulación antioxidante a nivel intramedular podría corresponderse con una eritropoyesis ineficaz.

Con respecto a los sistemas antioxidantes hematopoyéticos, se ha verificado que la familia de factores de transcripción fox (FoxO) posee funciones esenciales en la regulación del estrés oxidativo de las células madre hematopoyéticas y eritroides (Marinkovic y cols., 2007b). Los FoxO actúan como sensores de las ERO transformando la señal recibida en la inducción de mecanismos que activan a los sistemas antioxidantes o transformando esta señal en otras que estimulan los procesos apoptóticos celulares (Krafczyk y Klotz, 2022). Entre los FoxO se ha reportado que el FoxO3 es el que más predomina en los sistemas hematopoyéticos, altamente expresado en la médula ósea, y posee importantes funciones sobre el mantenimiento de la homeostasis de las células progenitoras eritroides (Ghaffari, 2010). Esto concuerda con otros trabajos donde se

observó que la pérdida del FoxO3 condujo a una reducción de las células progenitoras hematopoyéticas, así como a una mayor acumulación de ERO e índices de hemólisis en ratones *Knock out* a los que se les eliminó el gen que codifica para los FoxO (Marinkovic y cols., 2007b).

Uno de los mecanismos por los que FoxO3 realiza sus funciones consiste en el aumento de la transcripción de los genes que codifican para la síntesis de enzimas antioxidantes en las células progenitoras eritroides, destacando la SOD, la catalasa y la GPX-1 (Akasaki y cols., 2014; Klotz y cols., 2015). Asimismo, para que los FoxO3 puedan realizar sus funciones fisiológicas deben sufrir una translocación nuclear (Klotz y cols., 2015). En este sentido, Bárcenas-Perez y cols (2021) han demostrado, a través de sofisticadas técnicas, que la fucoxantina presente en las microalgas promueve la translocación nuclear de FoxO3, favoreciendo todas sus funciones antioxidantes (Bárcenas-Pérez y cols., 2021).

Por lo tanto, los carotenoides, así como otros componentes bioactivos presentes en la TC han podido ejercer efectos estimulantes sobre los FoXO3 contribuyendo a mantener una tendencia positiva de los niveles de hematíes y del hematocrito en los grupos suplementados durante los meses de ingesta de la microalga en comparación con el GP, que tendió a disminuir los valores de la serie roja. No obstante, es probable que, tras la digestión de la TC, las concentraciones de carotenoides y otros compuestos antioxidantes que alcancen la médula ósea sean considerablemente bajas. Estos elementos posiblemente ejerzan sus mayores efectos sobre los hematíes periféricos y sobre otras moléculas circulantes por cuestiones lógicas de inmediatez. Este razonamiento concuerda con los hallazgos obtenidos por Bellido y Maynar (2017). Estos autores evidenciaron que los índices de peroxidación lipídica de los ácidos grasos eritrocitarios disminuyeron tras un mes de suplementación con TC en futbolistas (Bellido y Maynar, 2017). De acuerdo con esta idea, es plausible que la suplementación con TC favorezca la resistencia de las membranas biológicas de los hematíes circulantes, protegiéndolos del estrés oxidativo y de otros procesos destructivos.

Igualmente, se ha evidenciado que el suplemento de TC administrado en el presente trabajo posee concentraciones notables de SOD con considerables índices de actividad en modelos *in vitro* (Ramírez y cols., 2020). Sin embargo, según el principio farmacocinético general de los fármacos, la biodisponibilidad oral de la SOD es relativamente baja, debido a su alto peso molecular (Stephenie y cols., 2020). La SOD exógena se digiere y se

desnaturaliza en el estómago por la acción de las peptidasas y el entorno ácido (Lehninger y cols., 2000). Además, el alto peso molecular de la SOD exógena implica que su absorción celular sea limitada, incluso cuando se inyecta (Rosa y cols., 2021). No obstante, la MEC de la TC podría proteger de la acción gástrica a la SOD ubicada en su interior, pero una vez liberada en el intestino delgado sus mecanismos de absorción son dificultosos (Rosa y cols., 2021). Por ello, es predecible que solo una mínima parte de la cantidad de SOD absorbida podría alcanzar la médula ósea para ejercer sus efectos sobre los precursores eritropoyéticos.

Por otra parte, la unión del IGF-1 a su receptor desencadena la activación de la vía PI3K/akt, a través de procesos fosforilativos (Machida y Booth, 2004b). Un gran cuerpo de evidencias científicas ha demostrado que la estimulación de dicha vía también da como resultado la fosforilación de las proteínas FoxO (Bhardwaj y cols., 2021). En este sentido, la akt fosforila a los FoxO en múltiples sitios, lo que conduce a la exclusión de las proteínas FoxO fosforiladas del núcleo celular y, consecuentemente, a la inhibición de sus funciones transcripcionales (Zhang y cols., 2011). Además, es bien conocido que el IGF-1 circulante puede transportarse hasta la médula ósea modificando ciertas actividades enzimáticas en su interior (Menagh y cols., 2010). Teniendo en cuenta que los grupos suplementados experimentaron elevaciones significativas del IGF-1 a partir del segundo mes de suplementación con TC, es endocrinológicamente plausible que esta hormona haya podido desencadenar ciertos efectos inhibitorios sobre el FoxO3 medular que no han podido ser compensados por la función antioxidante de los componentes de la TC. Todo esto podría constituir una de las razones que expliquen la ausencia de cambios positivos en la serie roja, aunque existan elevaciones importantes de la EPO en los grupos suplementados.

De forma complementaria a este mecanismo, el posible estrés oxidativo sobre los progenitores eritroides inducido por los incrementos significativos de la EPO, registrados en los grupos que consumían TC, ha podido elevar más los niveles de ERO en los sistemas hematopoyéticos. De este modo, el microambiente medular generado, probablemente por la TC, requiera también de una regulación más potente de los sistemas antioxidantes hematopoyéticos para que puedan tener lugar los procesos de biosíntesis de forma más eficiente y puedan ser apreciados estadísticamente.

Por lo tanto, según la bibliografía consultada, se puede considerar que aunque la TC contenga una rica composición en elementos antioxidantes, la biodisponibilidad de estos

en un sistema *in vivo* podría verse reducida (Rosa y cols., 2021). En relación con lo anterior, existe la posibilidad de que los componentes absorbidos contribuyan en cierta medida a combatir el estrés oxidativo medular, pero no tengan la suficiente fuerza como para contrarrestar el estrés oxidativo inducido por el posible aumento de los procesos eritropoyéticos, mediados por el entorno endocrinológico creado por la TC. Estos hechos podrían constituir una de las razones, junto con las deficiencias de hierro y de vitaminas del complejo B, por las cuales los incrementos de la EPO observados en los grupos suplementados no se correspondieron con incrementos significativos ($p < 0,05$) de la serie roja.

Por último, otros resultados destacables relacionados con los parámetros de la serie roja son los decrementos significativos ($p < 0,05$) del hematocrito en los grupos suplementados con TC durante el período de desadaptación. Curiosamente, estos resultados coinciden con los reportados anteriormente por nuestro equipo de trabajo, en los que se apreciaron elevaciones de las concentraciones de la hemoglobina junto con una disminución paradójica de los valores del hematocrito (Toro y cols., 2020). Cabe señalar que el recuento del número de hematíes sanguíneos se mantuvo estable durante el transcurso de la presente investigación y que los valores del VCM fueron normales en todo momento. Por ello, es probable que las disminuciones registradas del hematocrito se deban a un fenómeno de hemodilución (Messmer, 1975).

En el presente trabajo, la disminución del hematocrito se observó tras un mes sin consumir la microalga pero en el estudio realizado por Toro y cols (2020) dichas reducciones se apreciaron tras el primer mes de suplementación y fueron asociadas con posibles efectos osmóticos inducidos por el sodio y los cloruros presentes en la TC (Toro y cols., 2020). No obstante, debido a los desajustes temporales de estos hallazgos con respecto a los de la presente tesis doctoral, es complicado dilucidar si el posible fenómeno de hemodilución se relaciona exclusivamente con el consumo de TC. Es posible que estos resultados también se deban a la existencia de alguna variable contaminante relacionada con ciertas modificaciones nutricionales de los participantes en su vida diaria que no se hayan podido controlar a través del registro nutricional.

Por otra parte, al igual que ocurrió con los parámetros hormonales, todas las variaciones registradas en la serie roja se mantuvieron dentro de los rangos considerados como normales.

3.1.3. PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL HEMOGRAMA: SERIE BLANCA Y PLAQUETARIA.

En el presente apartado se analizan y se discuten los resultados relacionados con las variaciones registradas en los valores de la serie blanca y de la serie plaquetaria durante el transcurso de las evaluaciones.

La tabla 14 muestra los valores sanguíneos de la serie blanca y plaquetaria que presentaron los tres grupos durante todas las evaluaciones.

Puede apreciarse que el GP aumentó significativamente la concentración de leucocitos ($p < 0,05$) y de neutrófilos ($p < 0,05$) tanto durante el mes 2 como en la desadaptación, con respecto a los niveles basales. En el GS 25, se registraron diversos incrementos significativos ($p < 0,05$) en las concentraciones de leucocitos ($p < 0,05$) durante el mes 1 y los valores de linfocitos ($p < 0,05$) durante el mes 2, en comparación con los valores iniciales. Asimismo, en el GS 25, tras la desadaptación, se registraron incrementos de los niveles de neutrófilos ($p < 0,05$), con respecto a las concentraciones basales y el mes 1, así como descensos ($p < 0,05$) de los valores de linfocitos, en relación con los dos meses anteriores. Además, en este grupo se apreciaron descensos significativos ($p < 0,05$) de las concentraciones de los eosinófilos durante el mes 2, con respecto a los niveles iniciales. En el GS 200 únicamente se apreciaron incrementos significativos ($p < 0,05$) de las concentraciones de linfocitos tras los tres meses de estudio, en comparación con la evaluación inicial. También, son llamativas las diferencias significativas ($p < 0,05$) en las concentraciones de los monocitos y de los basófilos durante el mes 1 entre el GS 25 y el GP, así como en las concentraciones de linfocitos durante el mes 2 ($p < 0,05$) entre el GS 25 y GS 200.

Tabla 14. Valores de la serie blanca y plaquetaria durante el periodo experimental.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Leucocitos (miles)	Basal	5,89±1,02	5,85±1,22	6,64±2,29
	Mes 1	5,66±1,28	6,28±1,13[#]	6,16±1,45
	Mes 2	6,39±1,33[#]	6,27±1,19	5,97±1,15
	Desadaptación	6,37±1,42^μ	7,25±1,88^Ω	6,5±1,16
Neutrófilos (10 ³ /μL)	Basal	3,64±0,70	3,4±0,68	4,45±1,88
	Mes 1	3,37±0,80	3,54±0,65	3,7±1,18
	Mes 2	4,13±1,19[#]	3,55±0,71	3,62±0,82
	Desadaptación	4,06±1,05^μ	4,65±1,69^{Ωμ}	4,05±0,80
Basófilos (10 ³ /μL)	Basal	0,07±0,03	0,08±0,06	0,12±0,08
	Mes 1	0,05±0,05	0,14±0,16[*]	0,12±0,11
	Mes 2	0,07±0,05	0,08±0,06	0,04±0,03
	Desadaptación	0,06±0,06	0,07±0,03	0,07±0,04
Eosinófilos (10 ³ /μL)	Basal	0,3±0,24	0,25±0,16	0,25±0,1
	Mes 1	0,21±0,13	0,22±0,18	0,22±0,08
	Mes 2	0,20±0,11	0,18±0,09^Ω	0,22±0,07
	Desadaptación	0,21±0,12	0,27±0,16[#]	0,26±0,10
Monocitos (10 ³ /μL)	Basal	0,47±0,12	0,47±0,15	0,6±0,24
	Mes 1	0,42±0,14	0,56±0,21[*]	0,54±0,20
	Mes 2	0,50±0,16	0,55±0,22	0,52±0,13
	Desadaptación	0,55±0,15	0,6±0,19	0,6±0,21
Linfocitos (10 ³ /μL)	Basal	1,42±0,59	1,67±0,47[^]	1,26±0,50
	Mes 1	1,63±0,56	1,82±0,43	1,58±0,35[#]
	Mes 2	1,50±0,53	1,92±0,45^{Ω*}	1,51±0,57^Ω
	Desadaptación	1,62±0,53	1,67±0,42^{#μ}	1,52±0,68^Ω
Plaquetas (miles)	Basal	211,81±48,01	268,58±40,12[*]	232,08±57,57
	Mes 1	197,37±33,98[#]	221,50±26,11[#]	212,50±32,90
	Mes 2	196,00±20,16	222,33±21,03^{ΩΩ*}	212,17±38,94
	Desadaptación	190,94±26,56^Ω	217,42±33,90^{ΩΩ*}	204,25±34,39
Plaquetocrito (%)	Basal	0,20±0,04	0,25±0,05[*]	0,20±0,04[^]
	Mes 1	0,19±0,03	0,21±0,03[#]	0,18±0,04
	Mes 2	0,20±0,00	0,20±0,00	0,20±0,04
	Desadaptación	0,19±0,02	0,18±0,04^Ω	0,19±0,03
VPM (fL)	Basal	8,88±0,93	8,81±0,47	8,49±0,46
	Mes 1	8,98±0,96	8,75±0,57	8,53±0,65
	Mes 2	8,88±0,91	8,76±0,60	8,52±0,61
	Desadaptación	8,88±0,84	8,67±0,69^μ	8,50±0,67

GS 25: 25 mg group; GS 200: 200 mg group; VPM: volumen plaquetario medio

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. [#] p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; ^μ p < 0,05 diferencias de la desadaptación vs, mes 1; ^Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal ^{ΩΩ} p < 0,01 desadaptación o mes 2 vs, basal.

Test de U Mann Whitney: diferencias entre grupos. ^{*} p < 0,05 diferencias entre GP vs, GS 200 o GS 25; [^] diferencias entre GS 25 vs; GS 200.

Finalmente, en cuanto a los valores plaquetarios, en el GP únicamente se observaron disminuciones de las plaquetas (p<0,05) en los meses 1 y 2, con respecto a los valores

basales. En el GS 25 se apreciaron disminuciones significativas en los valores del recuento plaquetario ($p < 0,05$) y del plaquetocrito ($p < 0,05$) en el mes 1, en comparación a los valores iniciales. Destacó en el GS 25, el descenso altamente significativo ($p < 0,01$) de los niveles plaquetarios en el mes 2 y en la desadaptación, con respecto a las concentraciones basales. Igualmente, en el GS 25 tras la desadaptación se observaron disminuciones significativas tanto de los niveles de VPM ($p < 0,05$), en comparación al mes 1 como del plaquetocrito ($p < 0,05$), con respecto a los valores iniciales. Además, se verificaron diferencias significativas entre el GS 25 y el GP en los niveles iniciales de plaquetas ($p < 0,05$) y del plaquetocrito ($p < 0,05$), registrándose también dichas diferencias ($p < 0,05$) entre el GS 25 y el GS 200 en el plaquetocrito basal.

Como se puede apreciar en los resultados obtenidos, la serie blanca sufrió interesantes cambios. En primer lugar, cabe señalar que en el GP solo se observaron incrementos de las concentraciones de neutrófilos ($p < 0,05$) entre la desadaptación y el mes 2. Como consecuencia, este grupo incrementó el recuento de leucocitos ($p < 0,05$), siguiendo el mismo patrón temporal que los valores de los neutrófilos. Por otra parte, en el GS 25 se observaron incrementos de las concentraciones de leucocitos ($p < 0,05$), de neutrófilos ($p < 0,05$), de basófilos ($p < 0,05$) y de linfocitos ($p < 0,05$). Curiosamente, en el GS 200 únicamente se observaron incrementos de los valores de los linfocitos ($p < 0,05$).

Una gran cantidad de investigadores se ha interesado por el posible potencial inmunomodulador de las microalgas. En este aspecto, los resultados observados por otros autores con relación a los efectos asociados al consumo de microalgas sobre las líneas celulares del sistema inmunológico, coinciden plenamente con los resultados obtenidos en el presente trabajo. Simporte y cols. (2007) investigaron los efectos de la espirulina en las funciones inmunitarias de niños infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Simporte y cols., 2007). Estos autores concluyeron que la suplementación con 10 mg al día de espirulina durante un año mejoraba el estatus inmunológico de los pacientes, asociando estos resultados a un aumento de los niveles de linfocitos T CD4. Recientemente, Cai y cols. (2022) han identificado la presencia de un polisacárido ácido en la composición de la *Spirulina Platensis*, denominado SP90-1 (Cai y cols., 2022). Observaron *in vitro* en células RAW264.7, que esta sustancia promovía la secreción de óxido nítrico, de IL-1 β y de TNF α . Esto podría explicar parte de la actividad inmunomoduladora de la *Spirulina Platensis*.

Igualmente, Hasegawa y cols (1999) describieron los posibles efectos de la suplementación oral con un extracto de *Chlorella vulgaris* al 2% sobre la respuesta inmune específica de ratones. De este modo, se observó que los ratones suplementados con *Chlorella* exhibieron incrementos de la expresión del ARNm de la IL-6, altamente involucrada en las respuestas adaptativas mediadas por los linfocitos T colaboradores de tipo 2 (linfocitos Th2) (Hasegawa y cols., 1999). Además, la suplementación con *Chlorella* también se asoció con mayores niveles de ARNm de la IL-12 y del IFN γ que participan muy activamente en las respuestas mediadas por los linfocitos T colaboradores de tipo 1 (linfocitos Th1). También se ha evidenciado que los extractos de *Chlorella* poseen polisacáridos solubles con capacidad para inducir la secreción de IL-1 en los macrófagos (Hsu y cols., 2010).

Lamm y cols (1995) evaluaron a través de un estudio cruzado aleatorizado a doble ciego los efectos de la suplementación con *Chlorella vulgaris* (6g/día) durante cuatro semanas sobre las concentraciones de Inmunoglobulina A (IgA) en humanos (Lamm y cols., 1995). Estos autores observaron que las concentraciones de IgA se elevaron significativamente después de la suplementación con *Chlorella vulgaris*. Además, también evidenciaron que la tasa de secreción de IgA aumentó significativamente tras las cuatro semanas de suplementación con *Chlorella vulgaris*. Estos resultados sugieren que la suplementación con *Chlorella vulgaris* podría aumentar la secreción de IgA mejorando la función inmunológica de las mucosas en humanos.

En esta misma línea, Kwak y cols. (2012), mediante un ensayo aleatorizado a doble ciego en adultos sanos, investigaron el efecto de la suplementación con *Chlorella* sobre la actividad de las células NK y sobre la respuesta inflamatoria temprana (Kwak y cols., 2012). Tras ocho semanas de suplementación con *Chlorella vulgaris* se elevaron significativamente las concentraciones séricas de IFN γ e IL-1 en los individuos suplementados. Además, también se registraron incrementos significativos de la actividad de las células NK asociados a la suplementación con esta microalga.

Definitivamente, existe un gran conjunto de observaciones científicas que muestran fuertes evidencias sobre el potencial efecto inmunológico asociado al consumo de las microalgas. Según lo que se ha descrito en la introducción, el sistema inmune constituye una red extensa de células, tejidos y órganos cuya función principal consiste en eliminar y en reconocer los agentes extraños (Scudiero y cols., 2021). Para reconocer los patógenos, muchas células de este sistema expresan receptores de tipo Toll (TLR)

encargados de identificar estructuras como los ácidos nucleicos, los lipopolisacáridos y los polisacáridos presentes en los microorganismos (Patidar y cols., 2018). Según el tipo de TLR activado se liberan diferentes patrones de citocinas y quimiocinas que potencian la respuesta inmune (Root-Bernstein y Stafford, 2021). La pared celular de las microalgas está formada por una matriz compleja de polisacáridos y de lipopolisacáridos, dependiendo de la filogenia su composición y su concentración (Benavente-Valdés y cols., 2021).

De acuerdo con lo anterior, se ha verificado que las MEC de *Tetraselmis sp.* contienen polisacáridos ácidos y sulfatados (De Jesús y cols., 2013; Gupta y cols., 2017). En diferentes trabajos se ha demostrado que la sulfatación de los polisacáridos puede mejorar la detección de los mismos por parte de los receptores TLR4 de los macrófagos (Chen y Huang, 2018). Tras el reconocimiento de los polisacáridos, los TLR4 aumentan la producción de citocinas y quimiocinas estimulantes de la médula ósea (Chiba y cols., 2018; He y cols., 2016). Como consecuencia, podrían incrementarse tanto los procesos proliferativos de las diversas células inmunes como su extravasación al torrente circulatorio (Chiba y cols., 2018).

Desde una perspectiva inmunológica, tras la digestión de la TC, los polisacáridos podrían actuar mimetizando la composición externa de un microorganismo extraño, pudiendo ser detectados por las células inmunes presentes en las placas de Peyer intestinales. Consecuentemente, estas células responderían promoviendo una inflamación de muy bajo grado a través de citocinas como la IL-1, la IL-6 y el TNF α . Este discreto ambiente pro-inflamatorio podría elevar temporalmente las concentraciones de leucocitos y de linfocitos de forma beneficiosa. Más tarde, la respuesta inmune se equilibraría, pudiéndose explicar así los resultados obtenidos. Además, nuestros hallazgos sugieren la existencia de un posible efecto específico de la TC sobre la serie linfoide, pues es la única afectada en los dos grupos suplementados. Este hecho concuerda con el reciente trabajo de Sharp y cols. (2021) en el que se observaron aumentos de la inmunoglobulina A en saliva de sujetos suplementados con TC durante catorce días (Sharp y cols., 2021a). Probablemente, esto se deba al tipo de patrón de citocinas secretado tras la ingesta de TC.

Según todo lo anterior, puede considerarse que la TC podría contribuir en la prevención y el tratamiento de patologías infecciosas. Cabe señalar que, debido a la actual situación de crisis sanitaria global por el coronavirus tipo 2 causante del síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV2), estos hallazgos podrían tener un gran interés.

Por otra parte, los cambios hormonales registrados en los grupos suplementados con TC, también han podido influir sobre las modificaciones de los parámetros relacionados con la serie blanca. Especialmente, diversas evidencias científicas avalan que las fluctuaciones observadas en las concentraciones de EPO e IGF-1 podrían vincularse con cambios en los valores de la serie blanca.

En los últimos años, numerosos estudios han demostrado que la EPO actúa mucho más allá de su función eritroide. En este aspecto, estudios recientes han revelado que la EPO y sus derivados también podrían actuar directamente sobre las células inmunitarias (Lisowska y cols., 2010; Peng y cols., 2020). La EPO lleva a cabo estas acciones gracias a la expresión de su receptor (EPO-R) en la superficie celular de los linfocitos y los monocitos y gracias a la existencia de actividad transcripcional del gen EPO-R en estas células (Peng y cols., 2020; Vinanica y cols., 2020). En relación con estos fundamentos, Lisowska y cols. (2010) realizaron un estudio para explorar los efectos de la rhEPO sobre los linfocitos CD4 en pacientes con patología renal y verificaron que la rhEPO normalizaba la capacidad proliferativa y los marcadores de activación de los linfocitos CD4 (Lisowska y cols., 2010). Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Unger y cols. (2017) que observaron que la administración de EPO se asociaba con mejores propiedades linfocíticas en pacientes con síndrome mielodisplásico, cuyo sistema inmune está deteriorado (Deshet-Unger y cols., 2017).

En consonancia con los anteriores hallazgos, se ha comprobado que la EPO posee un efecto inmunorregulador sobre los linfocitos T, facilitando la proliferación de los linfocitos T reguladores (Peng y cols., 2020). De este modo, se ha establecido que la EPO puede actuar como una citocina inmunomoduladora en el organismo humano que promueve la fosforilación y la activación del STAT5 en las células linfoides (Vinanica y cols., 2020). En este sentido, se ha evidenciado que el STAT5 puede incrementar la transcripción de las moléculas antiapoptóticas linfoides y puede favorecer la linfoproliferación (Simpson y cols., 2018; Tóthová y cols., 2021; Vinanica y cols., 2020).

Consecuentemente, los cambios significativos ($p < 0,05$) registrados en las concentraciones de los linfocitos podrían guardar relación con el incremento de las concentraciones de la EPO observados tras el consumo de TC. Por ello, la EPO podría proteger a los linfocitos de los procesos apoptóticos celulares, promoviendo ligeros aumentos en sus concentraciones sanguíneas.

También, durante mucho tiempo gran cantidad de autores han sugerido que el sistema bioseñalizador del IGF-1 desempeña un papel importante en el desarrollo de los linfocitos T en el timo y en el crecimiento de los linfocitos T maduros (Walsh y cols., 2002). A través de ensayos de unión con radioligandos y de análisis de citometría de flujo, se ha demostrado que los timocitos humanos poseen receptores para el IGF-1 (Kooijman y cols., 1995). De este modo, se ha verificado que el IGF-1 estimula directamente la síntesis de ADN en los timocitos y potencia los procesos proliferativos de estas células, lo cual indica que el IGF-1 puede inducir un incremento de las concentraciones de los linfocitos T a través de sus acciones sobre el timo (Kooijman y cols., 1995; Walsh y cols., 2002).

El IGF-1 puede influir sobre los procesos de muerte celular mediada por el receptor de muerte Fas, que es esencial para el mantenimiento de la homeostasis inmunitaria pues elimina los linfocitos T activados a medida que disminuye la respuesta inmune (Alderson y cols., 1995; O'Connor, 1998). En esta línea, ha sido reportado que el IGF-1 promueve la supervivencia celular de los linfocitos al inhibir las acciones metabólicas de Fas (Douglas y cols., 2007). Este proceso puede realizarlo a través de dos vías diferentes.

En primer lugar, la activación del IGF-1R activa el PI3K y la proteína quinasa Akt. La Akt activada puede proteger a los linfocitos de la muerte inducida por Fas emitiendo señales que conducen a la expresión de IL-2 y de IFN- γ , que favorecen su activación y los sistemas bioquímicos de supervivencia celular (Ahmed y cols., 1997; Badr y cols., 2017). Esto concuerda con las observaciones de Stambolic y cols. (1998) que, mediante manipulaciones genéticas, regularon positivamente la vía Akt de ratones (Stambolic y cols., 1998). Estos autores comprobaron que los ratones manipulados exhibieron una mayor resistencia a la eliminación de Fas y, consecuentemente, aumentaron la susceptibilidad a los procesos autoinmunes.

En segundo lugar, el IGF-1 puede activar una vía independiente de la PI3K que involucra a las quinasas N-terminales (JNK), caracterizadas por asociarse con procesos de supervivencia celular (Walsh y cols., 2002). Las JNK pertenecen a una familia de proteínas quinasas activadas por estrés (SAPK). La activación de las SAPK se produce como respuesta a estímulos de estrés celular pero también posee funciones importantes en la activación y la homeostasis de los linfocitos T (Chang y Karin, 2001; Hammouda y cols., 2020). En este contexto, se ha sugerido que la activación transitoria de las JNK linfocitarias, mediada por el IGF-1, puede prolongar la supervivencia celular a través de una optimización de la actividad antiapoptótica de las Bcl-2, una familia de proteínas

altamente involucradas en la regulación de los procesos de permeabilización mitocondrial y que constituye un elemento central en la inhibición de la apoptosis (Deng y cols., 2001; Green, 2022).

Por lo tanto, se puede considerar que, debido a los incrementos altamente significativos ($p < 0,01$) de las concentraciones del IGF-1 observados en los dos grupos suplementados con TC, los efectos proliferativos y antiapoptóticos que el IGF-1 podría ejercer sobre los linfocitos T han podido contribuir a los aumentos significativos ($p < 0,05$) de los linfocitos en estos participantes.

Otros de los componentes presentes en la TC que han podido influir en los cambios de las concentraciones linfocitarias son los carotenoides. Ha sido avalado por un amplio cuerpo de trabajos académicos que los carotenoides poseen funciones inmunofarmacológicas, puesto que optimizan los procesos blastogénicos tanto de los linfocitos T como de los linfocitos B, aumentan la población de los subconjuntos linfocitarios específicos e incrementan la actividad citotóxica de los linfocitos (Chaudhary y cols., 2020). En relación con lo anterior, Speranza y cols. (2012), demostraron que se puede aumentar significativamente ($p < 0,05$) la proliferación de los linfocitos T en modelos *in vitro* utilizando una concentración de $20 \mu\text{mol/L}^{-1}$ de diferentes esteroisómeros de astaxantina (Speranza y cols., 2012). Otros autores como Kim y cols. (2000), verificaron que la suplementación con 10 mg de luteína durante 12 semanas en gatos domésticos incrementó los porcentajes de linfocitos CD4 y CD21, lo que también respalda la acción inmunomoduladora de otros carotenoides (Kim y cols., 2000).

Por otra parte, los β -carotenos han mostrado poseer potentes efectos sobre los linfocitos (Milani y cols., 2017). Uno de los primeros autores en corroborar esto fue Seifter y cols (1981) cuyo trabajo informó sobre los efectos proliferativos que poseen los β -carotenos sobre el timo y los linfocitos pequeños tímicos (Milani y cols., 2017). Más tarde, una gran cantidad de investigaciones ha respaldado los efectos inmunomoduladores ejercidos por los β -carotenos. Estos efectos parecen ser consecuencia de la metabolización de los β -carotenos en ácido retinoico (forma más activa de la vitamina A), que posee múltiples receptores en muchos tejidos del organismo humano (Ghyselincks y Duester, 2019; Oliveira y cols., 2018).

Los β -carotenos son considerados como provitamina A pues a través de la escisión oxidativa simétrica del β -caroteno mediante la acción de la enzima β -caroteno-15, 15'-

oxigenasa (CMOI) se generan dos moléculas de retinaldehído que se transforman en dos moléculas de retinol, comúnmente conocido como vitamina A, tras su reducción reversible por las retinol deshidrogenasas (RDH) o por ciertas isoformas de alcohol deshidrogenasas (ADH), (Shete y Quadro, 2013). Alternativamente, el retinaldehído resultante de los β -carotenos o de la oxidación del retinol puede ser oxidado y transformarse en ácido retinoico por la alcohol deshidrogenasa 1 (ALDH1) (Shete y Quadro, 2013). En este sentido, el ácido retinoico constituye la forma química más bioactiva de la vitamina A, por lo que la mayor parte de los efectos de los β -carotenos se debe a su metabolización en ácido retinoico (Napoli, 2018; Tourniaire y cols., 2009).

El ácido retinoico se integra en diversos complejos de receptores nucleares que actúan como factores de transcripción uniéndose al ADN y afectando directamente a la expresión de los genes diana (Evans, 2005). Existen dos tipos de receptores nucleares para el ácido retinoico, los receptores retinoides (RAR) y los rexinoides (RXR) (Chambon, 1996). Estas dos clases de receptores suelen formar un complejo heterodimérico RAR-RXR, que constituye el principal elemento receptorial al que se une el ácido retinoico para ejercer sus funciones celulares (Evans, 2005).

Curiosamente, los receptores de tipo RAR se expresan en gran medida en el sistema hematopoyético adulto (Evans, 2005). En este aspecto, se ha demostrado que los receptores RAR de clase γ regulan positivamente la linfopoyesis de los linfocitos T y B, tanto en el timo como en la médula ósea (Joseph y cols., 2016). Este hecho se vincula estrechamente con los hallazgos de otros trabajos que comprobaron que tras eliminar este receptor se desencadenaba una disminución del recuento celular de los linfocitos T y B circulantes, demostrando así que la expresión de los receptores RAR γ era necesaria para la linfopoyesis en la médula ósea y en el microambiente del timo (Purton y cols., 2006; Walkley y cols., 2007). Además, el ácido retinoico también modula específicamente la proliferación y la diferenciación de los linfocitos B y constituye un ligando para los receptores TLRs de tipo 9, que al activarse generan señales de supervivencia celular (Krieg, 2006b; Rasmussen y cols., 2009).

Ha sido comprobado que las especies de microalgas del género *Tetraselmis* poseen notables concentraciones de carotenoides y de β -carotenos (Schüler y cols., 2020). Por ello, todas las anteriores respuestas linfoproliferativas inducidas por los carotenoides también podrían explicar una buena parte de los incrementos de las concentraciones de linfocitos observadas en los dos grupos suplementados con TC.

También, es importante considerar la posible presencia de diversos péptidos bioactivos de carácter inmunomodulador liberados y absorbidos tras la digestión de la TC. Distintas observaciones han sugerido que el mecanismo inmunomodulador de los péptidos bioactivos presentes en las microalgas participa principalmente en la regulación de citocinas y en las vías de proliferación de los linfocitos T y B (Fan y cols., 2014). En esta línea, Morris y cols (2007) informaron sobre aumentos notables de la reserva linfocitaria en ratones desnutridos que se suplementaron con un hidrolizado proteico de *Chlorella vulgaris* (Morris y cols., 2007). En otro estudio, se demostró que el hidrolizado de *Ecklonia cava* poseía efectos inmunoestimulantes sobre los esplenocitos murinos *in vitro* (Ahn y cols., 2008). Además, en ratones tratados con un hidrolizado de *Ecklonia cava* se incrementó drásticamente la proliferación de esplenocitos, aumentando el recuento sanguíneo de linfocitos T CD4, de linfocitos T CD8 y de linfocitos B (Ahn y cols., 2008).

Actualmente, siguen sin descifrarse las secuencias aminoacídicas de estos péptidos y sus mecanismos de acción todavía son un gran misterio. Además, hasta la fecha, no se han llevado a cabo investigaciones suficientes para verificar la presencia de péptidos bioactivos en la composición proteica de la TC, debido al corto recorrido que posee esta microalga en el ámbito científico. No obstante, los péptidos bioactivos constituyen uno de los componentes básicos de la gran mayoría de microalgas, por lo que es imprescindible tenerlos en consideración para realizar un correcto análisis de los resultados obtenidos en el presente trabajo. Por ello, no se debe descartar la posible influencia de algún biopéptido inmunomodulador que, tras la digestión de la TC, haya regulado positivamente los procesos linfoproliferativos promoviendo los aumentos de las concentraciones linfocitarias observados tras la suplementación con TC.

En esta investigación, además de las variaciones en las concentraciones de los linfocitos y de otros leucocitos, cabe destacar que se observaron incrementos significativos ($p < 0,05$) en el recuento de neutrófilos tanto en el GP como en el GS 25. Concretamente, en el GS 25 solo se observaron estas diferencias durante el período de desadaptación, por lo que es posible que dichas fluctuaciones no se correlacionaran con la ingesta de TC. De este modo, los aumentos detectados en las concentraciones de los neutrófilos podrían asociarse a otras variables como a la presencia de procesos inflamatorios agudos en algún participante de la muestra de cualquiera de los dos grupos (Margraf y cols., 2022).

Con respecto a la serie plaquetaria, se observaron disminuciones significativas del recuento de plaquetas tanto en el GP ($p < 0,05$) como en el GS 25 ($p < 0,01$) en comparación con los valores basales. Sin embargo, las disminuciones en el número de plaquetas en el GS 25 fueron mayores que en el GP. Además, únicamente en el GS 25 se identificaron disminuciones significativas del VPM ($p < 0,05$) tras el consumo del suplemento.

Existen indicios de que el consumo de ciertas microalgas podría tener un efecto antiplaquetario. La microalga *Dunaliella tertiolecta*, ha demostrado tener un efecto antiagregante (Villar y cols., 1997). En este aspecto, diversos autores describen que podría ser debido a la inhibición de la liberación del ADP plaquetario a través de mecanismos aún desconocidos (De Jesús y cols., 2013). Además, ha sido reconocido que los pigmentos como la ficocianina, presente en las Cianobacterias, poseen importantes efectos antiplaquetarios (Chiu y cols., 2006). En diversos trabajos se ha evidenciado que la administración de ficocianina puede inhibir la enzima tromboxano sintetasa y las COX plaquetarias, disminuyendo la producción de tromboxano A₂ (Chiu y cols., 2006; Jensen y cols., 2016). Del mismo modo, este pigmento se ha asociado con una disminución de la expresión del receptor IIB/IIIA en la superficie de las plaquetas, acompañada de un aumento de AMP_c plaquetario (Chiu y cols., 2006).

Asimismo, se ha observado que tanto los flavonoides como los ácidos fenólicos, presentes en las células vegetales y en las microalgas, inhiben la agregación plaquetaria a través de una disminución de la producción de ADP y del aumento de la síntesis de AMP_c intraplaquetario (Fernández-Rojas y cols., 2022). También, se ha comprobado que los carotenoides, como la astaxantina presente en las microalgas, pueden reducir el recuento total de plaquetas y prolongar el tiempo de sangrado, lo cual vuelve a poner de manifiesto las propiedades antiplaquetarias de las microalgas (Satti y cols., 2020).

Además, como ya se ha descrito en anteriores apartados, las microalgas poseen una rica composición en AGPI n-3. A partir de los AGPI n-3 el ser humano puede producir el ácido docosahexanoico (DHA) y el ácido eicosapentaenoico (EPA) (Lehninger y cols., 2000). Se ha evidenciado que los EPA pueden competir con el ácido araquidónico e inhibir la vía de la COX-1, disminuyendo los niveles de tromboxano A₂ y, como consecuencia, la agregación plaquetaria (Adili y cols., 2018). También se ha propuesto, a través de ensayos *in vitro*, que los AGPI n-3 disminuyen la agregación plaquetaria a

través de la inhibición de la tromboxano sintetasa y de la síntesis de ADP plaquetario (McEwen y cols., 2013; Tapiero y cols., 2002).

Otro de los mecanismos antiplaquetarios que se les atribuye a los AGPI *n*-3 es la interacción con las células endoteliales, desencadenando un aumento de las concentraciones del óxido nítrico (ON) (Abeywardena y Head, 2001). Se ha demostrado que el ON, además de su función más destacada como vasodilatador, puede actuar como un agente antiplaquetario elevando el GMP_c (Adrie, 1996). Esta elevación desemboca en una marcada disminución del número de moléculas de fibrinógeno unidas a las plaquetas, así como en una reducción tanto del flujo de calcio intraplaquetario como de la secreción del contenido plaquetario (Adrie, 1996). Cabe destacar que el ON es una molécula inestable con una vida media muy corta (unos pocos segundos) pero se ha observado que sus efectos antiplaquetarios pueden ser más prolongados en el tiempo (Gries y cols., 1998). En este sentido, se ha demostrado que en adultos con síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA) el ON inhalado conduce a tiempos de sangrados prolongados, a inhibiciones de la agregación plaquetaria y a reducciones de la expresión del fibrinógeno, lo cual pone de manifiesto el potencial antiplaquetario de esta molécula (Gries y cols., 1998).

Lógicamente, la absorción de algún péptido bioactivo con propiedades antiplaquetarias tras la digestión de la TC, también ha podido contribuir en la disminución del recuento plaquetario registrada en los resultados de este trabajo. En la actualidad, los péptidos bioactivos con actividad antiplaquetaria/anticoagulante que se han descifrado en las microalgas son muy escasos. En este aspecto, el péptido bioactivo con secuencia NMEKGSSSVSSRMKQ, derivado del alga *P. yezonensis* ha mostrado una prolongación del tiempo de tromoplastina parcial activada dependiente de la dosis administrada (Subramaniyan y cols., 2021). Además, se ha registrado que la anticoagulación inducida por este péptido no es citotóxica y tiene un orden de actividad similar al de la heparina (Indumathi y Mehta, 2016). No obstante, son necesarias más investigaciones para comprobar la existencia de este tipo de péptidos en la composición de la TC.

Todas estas evidencias sugieren que los resultados observados podrían ser explicados por la rica composición de la TC en pigmentos fotosintéticos, en AGPI *n*-3 y por la posible existencia de algún péptido bioactivo con propiedades antiplaquetarias.

Además, la agregación plaquetaria se halla directamente relacionada con el recuento total de plaquetas, incluso dentro de los rangos normales (Würtz y cols., 2012). Por lo tanto, aunque en este estudio no se haya implementado una evaluación funcional de las plaquetas, los presentes resultados podrían indicar un posible efecto antiagregante de la TC debido a la disminución fuertemente significativa ($p < 0,01$) del recuento plaquetario en el GS 25. Estos hallazgos implicarían que la suplementación con TC podría contribuir a la prevención de la patología aterotrombótica. Cabe resaltar aquí que el efecto no fue dosis-dependiente, pues en el GS 200 se registraron descensos más discretos del recuento plaquetario pero sin llegar a la significancia estadística.

3.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS.

Este apartado guarda relación con el objetivo específico número 1 de este trabajo, a través del cual se pretende valorar el efecto de la suplementación con *Tetraselmis chuii* sobre las variables de carácter bioquímico de los participantes. De este modo, en el presente apartado se evalúa especialmente si existe algún tipo de toxicidad asociada al consumo de TC, así como los posibles cambios registrados en el metabolismo lipídico de los participantes.

En la tabla 15 se ilustran los parámetros bioquímicos estudiados en los tres grupos de la investigación a lo largo de todas las evaluaciones del período experimental. En el GP, disminuyeron los niveles de HDL ($p < 0,05$) durante el mes 2 y la desadaptación, en comparación con los valores observados inicialmente. En el GS 25 se apreciaron incrementos significativos ($p < 0,05$) de las concentraciones de HDL ($p < 0,05$) durante el mes 2, en comparación con los niveles iniciales y de LDL ($p < 0,05$) tras la desadaptación, con respecto al mes 2. Igualmente, en el GS 25, cabe destacar la detección de disminuciones significativas en los valores de HDL ($p < 0,05$) tras el periodo de desadaptación, en comparación con el mes 2. En el GS 200 se halló un incremento altamente significativo ($p < 0,01$) de los niveles de LDL durante el mes 2, en comparación con la evaluación inicial, así como una disminución de los valores de HDL ($p < 0,05$) tras la supresión de la ingesta de TC, en comparación con el mes 1 y con las concentraciones basales. Además, se produjeron diferencias significativas ($p < 0,05$) tanto en las concentraciones de GOT ($p < 0,05$) durante el mes 1 entre el GP y el GS 200 como en los valores de GTP ($p < 0,05$) durante el mes 2 entre el GS 25 y el GS 200.

Tabla 15. Valores bioquímicos de los participantes a lo largo de las evaluaciones.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Colesterol (mg/dL)	Basal	144,14±33,52	135,07±23,90	141,90±42,52
	Mes 1	135,22±31,00	133,75±26,54	147,06±41,86
	Mes 2	139,70±32,61	130,50±25,33	151,54±51,06
	Desadaptación	137,55±32,61	134,06±22,50	141,72±37,63
Triglicéridos (mg/dL)	Basal	66,02±30,02	59,70±21,36	76,83±24,11
	Mes 1	60,57±24,60	56,80±20,45	71,56±25,63
	Mes 2	73,10±22,80	51,90±19,57	72,83±24,05
	Desadaptación	60,33±19,80	58,89±16,46	76,03±22,76
HDL (mg/dL)	Basal	55,16±14,10	49,43±9,25	52,95±19,91
	Mes 1	51,07±7,34	50,04±10,13	50,11±13,70
	Mes 2	52,04±9,42 ^{Ω#}	52,34±9,89 ^Ω	47,71±16,40
	Desadaptación	45,76±9,13 ^Ω	46,47±7,66 [#]	41,85±8,54 ^{μΩ}
LDL (mg/dL)	Basal	75,77±30,72	73,68±21,77	73,56±34,20
	Mes 1	72,02±26,95	70,35±23,91	80,40±32,58
	Mes 2	73,03±26,33	65,78±21,80	89,07±37,72 ^{ΩΩ}
	Desadaptación	79,72±30,94	76,61±21,06 [#]	86,65±31,50 ^Ω
GOT (U/L)	Basal	31,94±13,51	26,00±6,22	23,16±3,80
	Mes 1	30,19±9,46	25,33±6,74	23,25±9,35 [*]
	Mes 2	27,81±8,21	27,66±10,63	26,91±15,06
	Desadaptación	26,87±7,52	29,50±13,72	25,25±5,56
GTP (U/L)	Basal	33,37±24,50	26,41±5,45	26,41±5,94
	Mes 1	31,06±14,46	29,41±15,29	25,66±7,95
	Mes 2	37,87±22,19	31,25±8,94 [^]	24,33±8,61
	Desadaptación	33,68±11,94	31,00±14,10	36,83±20,48
GGT (U/L)	Basal	21,06±8,10	22,00±6,70	22,92±9,27
	Mes 1	20,43±6,53	24,25±10,07	24,08±11,31
	Mes 2	19,87±7,98	22,00±6,66	22,83±8,68
	Desadaptación	20,43±5,48	23,75±8,47	23,25±12,02

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg ; HDL: lipoproteína de alta densidad; LDL: lipoproteína de baja densidad; GOT: transaminasa glutámico-oxalacética; GPT: transaminasa glutámico-pirúvica; GGT: gamma-glutamyl transaminasa.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. [#] p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; ^μ p < 0,05 desadaptación vs, mes 1; ^Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal; ^{ΩΩ} p < 0,01 desadaptación o mes 2 vs, basal

Test de U Mann Whitney: diferencias entre grupos ^{*} p < 0,05 diferencias entre GP vs, GS 200 o G 25; [^] p < 0,05 diferencias entre GS 25 y GS 200.

En relación con el perfil lipídico, en el GP únicamente se registraron disminuciones significativas del HDL (p<0,05), en comparación con los valores iniciales, probablemente debido al estilo de vida. Asombrosamente, se contemplaron cambios opuestos en el perfil lipídico del GS 25 y del GS 200. En el GS 25 las concentraciones de LDL disminuyeron recuperando los niveles basales tras la desadaptación, mientras que los valores de HDL aumentaron significativamente (p<0,05) tras la suplementación con TC y volvieron a disminuir (p<0,05) tras la desadaptación. Es decir, al anular la suplementación con TC,

los valores del perfil lipídico del GS 25 tendieron a recuperar sus niveles iniciales, lo cual muestra un posible efecto de la suplementación con la microalga sobre el metabolismo lipídico. Sin embargo, en el GS 200 los niveles de LDL aumentaron ($p < 0,01$) durante el segundo mes y las concentraciones del HDL disminuyeron ($p < 0,05$) tras la desadaptación.

De forma genérica, se ha considerado que las microalgas poseen efectos hipolipemiantes (Jacob-Lopes y cols., 2019). Este efecto se ha verificado ampliamente en la espirulina y sus extractos (Deng y Chow, 2010). En el metaanálisis realizado por Hamedifard (2019) se aprecia como la espirulina es asociada a descensos del LDL y aumentos del HDL, optimizando el control del síndrome metabólico (Hamedifard y cols., 2019). De forma opuesta, Hosseini y cols. (2021) no observaron efectos sobre el perfil lipídico asociados a la suplementación con 1500 mg/día de *Chlorella Vulgaris* durante ocho semanas en personas con diabetes tipo II (Hosseini y cols., 2021).

Diversos compuestos bioactivos presentes en las microalgas podrían asociarse a los efectos hipolipemiantes registrados en la gran mayoría de trabajos publicados. En este aspecto, los elementos que más pueden relacionarse con los cambios registrados en el perfil lipídico son los carotenoides, los AGPI, los polisacáridos y los fitoesteroles.

Los carotenoides han sido extensamente estudiados y se han verificado disminuciones significativas de las concentraciones séricas de las LDL y de los triglicéridos, así como aumentos de las concentraciones de las HDL asociados al consumo de carotenoides (Gammone y cols., 2015). Estos efectos podrían explicarse a través de diversas observaciones en las que se registraron incrementos de la expresión de los receptores APO-BE de las LDL inducidos por la presencia de carotenoides, lo cual podría desencadenar una reducción de las concentraciones sanguíneas de las LDL (Fuhrman y cols., 1997). Además, se ha informado sobre incrementos de la expresión de la enzima carnitina palmitoil transferasa 1 tras el consumo de carotenoides (Lee y cols., 2011). Esta enzima es una de las principales protagonistas que median el transporte de los ácidos grasos hacia la matriz mitocondrial para su beta-oxidación (Lee y cols., 2011). Esto último sugiere que el efecto hipolipemiante de ciertas microalgas podría fundamentarse en una mayor capacidad de la oxidación de los ácidos grasos en el interior de la mitocondria.

Con relación a los polisacáridos, se ha reportado que pueden reducir las concentraciones séricas de colesterol total, de las LDL, de las VLDL y de los triglicéridos

(Kalita y cols., 2022). Según estas evidencias, existen trabajos que han considerado a los polisacáridos sulfatados presentes en las microalgas como moléculas capaces de aumentar el volumen del quimo en el tracto gastrointestinal e inhibir la formación de micelas (Gara y cols., 2017). Esto es debido a que los polisacáridos regulan negativamente la expresión de la colecistoquinina, hormona importante involucrada en la contracción y la secreción del contenido de la vesícula biliar (Kalita y cols., 2022). De este modo, los polisacáridos inhiben la absorción lipídica, promoviendo la eliminación del colesterol y de diversos lípidos a través de las heces (Wu y cols., 2021).

Con respecto a los AGPI se ha evidenciado que estos poseen importantes efectos sobre el metabolismo de los triglicéridos (Bird y cols., 2018). Estas sustancias se han asociado a una disminución de la síntesis de triglicéridos debido a que inhiben la enzima di-acil-glicerol-acetil-transferasa, que cataliza la formación de triglicéridos a partir del glicerol y los ácidos grasos correspondientes (Lehninger y cols., 2000; Shibabaw, 2021). Además, se ha verificado que los AGPI ejercen un potente efecto estimulador sobre las lipoproteínas lipasas (LPL) (Shibabaw, 2021). Por ello, los AGPI pueden aumentar la degradación de los triglicéridos incrementando su transporte al interior celular, lo cual conduce a una reducción de sus concentraciones plasmáticas. Además, algunos trabajos han demostrado que los AGPI, al igual que los carotenoides, pueden incrementar la expresión del receptor APO-BE de las LDL (Hayes y cols., 1997).

Por otra parte, diferentes autores sostienen que el mecanismo por el que los AGPI reducen las concentraciones séricas de las LDL es independiente del aumento de la expresión del receptor APO-BE (Vasandani y cols., 2002). En este sentido, se ha evidenciado que los AGPI pueden elevar la eliminación hepática de las IDL y de las LDL a través de un mecanismo que parece mejorar la detección de apo-E en la superficie lipoproteica, manteniendo constantes los niveles de expresión del receptor APO-BE (Vasandani y cols., 2002). También, se ha registrado que los AGPI pueden suprimir la expresión de la familia de factores de transcripción de la proteína de unión a elementos reguladores de esteroides de tipo 1 (SREBP-1) (Vasandani y cols., 2002). Este hecho desencadena una disminución de la biosíntesis lipídica hepática que conlleva una reducción de la secreción al torrente sanguíneo de las diferentes lipoproteínas y de los triglicéridos (Lehninger y cols., 2000). Estos mecanismos de acción concuerdan con los efectos ampliamente registrados en la bibliografía científica, en los que se aprecian

disminuciones significativas de las LDL, de las VLDL y de los triglicéridos tras el consumo de microalgas (Eseberri y cols., 2019).

En relación con los fitoesteroles presentes en las microalgas, como ya se ha descrito en anteriores apartados, poseen una estructura similar al colesterol (Lu y cols., 2019). Estos constituyen los compuestos bioactivos contenidos en las microalgas que más cuerpo de evidencias científicas poseen con respecto al efecto hipolipemiante (Munawar y cols., 2022). De este modo, para comprender correctamente los posibles mecanismos de acción de los fitoesteroles, es necesario considerar las vías de internalización de absorción del colesterol.

La absorción de colesterol en el intestino es un proceso complejo que involucra múltiples vías fisiológicas interrelacionadas. En primer lugar, el colesterol no esterificado es captado por las micelas de los ácidos biliares, a través de las cuales es transportado hacia el borde en cepillo de las células intestinales (Lehninger y cols., 2000; Hall, 2020). Posteriormente, es absorbido mediante el transportador *Niemman-pick C1-like 1* (NPC1L1) ingresando al interior del enterocito (Li y cols., 2022). Una vez en el citosol de la célula intestinal, es esterificado por la enzima colesterol aciltransferasa 2 (ACAT2) y luego transferido hacia los quilomicrones formados por la proteína microsomal de transferencia de triglicéridos (PMT), que viajan hacia el sistema linfático (Duan y cols., 2004). Contrariamente, el transportador ABCG5/8 ubicado en la membrana apical del enterocito promueve la expulsión del colesterol desde las células intestinales a la luz del TG (Reeskamp y cols., 2020). Por lo tanto, la absorción del colesterol en el TG es un proceso complejo en el que múltiples genes se encuentran involucrados.

Según lo anterior, los fitoesteroles siguen rutas similares con respecto al colesterol haciéndole competencia bioquímica, lo cual constituye la base de su mecanismo de acción hipolipemiante (Cedó y cols., 2019). Los fitoesteroles son más hidrofóbicos que el colesterol, por lo que las micelas tienen una mayor afinidad por los fitoesteroles (Li y cols., 2022). Esta situación provoca una reducción de la absorción del colesterol, aumentando paralelamente su excreción en las heces (Li y cols., 2022). Además, al igual que el colesterol, los fitoesteroles se absorben desde las micelas a través del receptor NPC1L1, compitiendo ambos por la entrada hacia el enterocito (Ticho y cols., 2021).

En la línea de estos planteamientos, existen evidencias de que los fitoesteroles aumentan el flujo de salida del colesterol transintestinal a través del incremento de la

actividad del ABCG5/8 (Lifsey y cols., 2020). También se ha sugerido que los fitoesteroles pueden reducir la cantidad de colesterol que forma los quilomicrones a través de la disminución de la expresión de las enzimas ACAT2 y PMT (Li y cols., 2022; Temel y cols., 2003).

Además, los fitoesteroles han demostrado regular el metabolismo del colesterol hepático. En este sentido, los fitoesteroles que se distribuyen por los quilomicrones pueden ser transferidos a las LDL y a las HDL circulantes mediante las cuales consiguen ingresar en los hepatocitos, donde llevan a cabo sus mecanismos de acción (Gylling y cols., 2014). De acuerdo con esto, algunos autores han propuesto que los fitoesteroles pueden reducir la actividad de la enzima hidroximetilglutaril-Coenzima A-reductasa (HMGCR) que constituye un elemento central en la biosíntesis hepática de colesterol, pues actúa durante la segunda etapa de formación del mismo (Field y Born, 1997). Al reducir la actividad de esta enzima, se podría desencadenar una disminución de la síntesis endógena de colesterol con la consecuente reducción de sus concentraciones plasmáticas.

Aunque los fitoesteroles posean un gran potencial hipolipemiante, cabe señalar que su biodisponibilidad solamente es de un 2% como máximo (Li y cols., 2022). Por ello, para que el fitoesterol de las microalgas ejerza sus efectos debe liberarse de la MEC en abundancia, lo que depende principalmente del contenido en celulosa de la especie de microalga ingerida (Teuling y cols., 2019). No obstante, según diversos trabajos, las pequeñas cantidades de fitoesterol absorbidas y liberadas son suficientes para producir los efectos hipolipemiantes (Li y cols., 2022). Además, aunque los fitoesteroles no se absorban, pueden ejercer sus efectos inmediatamente en el TG tras desprenderse de la MEC y hacer competencia al colesterol por su incorporación a las micelas (Cedó y cols., 2019).

Por lo tanto, todos los mecanismos de acción anteriormente descritos y ejercidos por los fitoesteroles, los AGPI, los carotenoides y los polisacáridos, presentes en la composición de la TC, podrían fundamentar gran parte de los resultados obtenidos en el GS 25, en el que se registró una tendencia negativa de las concentraciones de colesterol total junto con aumentos ($p < 0,05$) del HDL y decrementos ($p < 0,05$) del LDL. Estos hallazgos coinciden con una gran parte de observaciones aportadas por otros autores.

También cabe destacar que se pudo observar una clara tendencia negativa de los valores de triglicéridos en los dos grupos que consumieron TC durante todo el período de

suplementación, aunque no se registraron diferencias significativas en las concentraciones de los mismos. Es interesante apreciar que los triglicéridos tendieron a recuperar los valores iniciales tras suprimir la suplementación con TC, lo cual podría representar un indicio del efecto de la microalga pues este hecho solo se produjo en los grupos suplementados, aunque no se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$).

Curiosamente, al analizar la evolución del perfil lipídico durante las valoraciones, se observó que los datos son contradictorios entre los dos grupos suplementados con TC. Los cambios del HDL y del LDL registrados en el GS 25, como ya se ha expuesto anteriormente, concuerdan con los efectos hipolipemiantes verificados por otros autores en la gran mayoría de microalgas (Eseberri y cols., 2019). Paradójicamente, en el GS 200 sorprende el incremento de las LDL ($p < 0,01$), así como la disminución paralela de los valores del HDL. Actualmente, hasta donde conocemos, el presente trabajo es el único que ha reportado un aumento significativo de las concentraciones de las LDL asociado al consumo de microalgas en humanos.

Una de las razones que pueden explicar el aumento de las concentraciones de las LDL en el GS 200 podría ser la posible inducción de los procesos esteridogénicos asociada al consumo de TC. En las células de Leydig, como en otros tejidos esteridogénicos, el colesterol es el sustrato principal para la síntesis de esteroides (Lehninger y cols., 2000). De esta manera, el colesterol puede sintetizarse en el interior de dichas células a partir del acetil-coenzima A o derivarse de las reservas plasmáticas a través de la endocitosis mediada por receptores de LDL (Martin y Touaibia, 2020a). En condiciones fisiológicas normales, las células de Leydig dependen principalmente de la producción endógena de colesterol para producir testosterona (Lehninger y cols., 2000; Martin y Touaibia, 2020a). Sin embargo, ante diversos aumentos de los procesos esteridogénicos las demandas de colesterol pueden satisfacerse mediante una mayor captación del colesterol extracelular proveniente de las LDL (Eacker y cols., 2008).

Así, el incremento de la actividad esteridogénica, posiblemente asociado con el consumo de TC, ha podido desencadenar un aumento de la biosíntesis de colesterol hepática para poder saciar las necesidades fisiológicas de las células de Leydig. Consecuentemente, pensamos que el incremento de las LDL ($p < 0,01$) en el GS 200 podría beneficiar los procesos endocrino-metabólicos que requieren colesterol pues dichos valores se mantienen en rangos normales y no representan ningún peligro para la salud humana. Esto concuerda con los aumentos de TES observados en el GS 200 en

comparación con el GP, en cuyo grupo esta variable incluso disminuyó durante los dos primeros meses.

Por otra parte, la perspectiva tradicional que asocia las LDL con el riesgo de cardiopatía coronaria está evolucionando. Actualmente, se reconoce que no solo influye el recuento total de LDL serológico, sino que también es crucial la composición de la lipoproteína (Kattoor y cols., 2018). En este aspecto, se ha evidenciado que tanto el tamaño de la molécula como el nivel de oxidación de la misma son claves a la hora de establecer un riesgo patológico preciso (Summerhill y cols., 2019). De este modo, las LDL oxidadas en el torrente circulatorio (ox-LDL) tienen mayor riesgo de ser captadas por los macrófagos y de depositarse en el endotelio de los vasos sanguíneos (Summerhill y cols., 2019).

La oxidación de las LDL es un proceso altamente complejo durante el cual tanto las proteínas como los lípidos sufren cambios oxidativos. Este mecanismo constituye una reacción de peroxidación lipídica impulsada por las ERO (Zhong y cols., 2019). La oxidación comienza cuando un radical reactivo extrae un átomo de hidrógeno de un AGPI incluido en los fosfolípidos superficiales o en el núcleo lipídico de las LDL. Esta reacción, en ausencia de concentraciones suficientes de antioxidantes y en combinación con algunos factores inductores, da como resultado la propagación de la peroxidación lipídica (Kiokias y cols., 2018). En este contexto, es ampliamente conocido que ciertos componentes bioactivos de las microalgas inhiben de forma considerable la peroxidación lipídica de las LDL. Algunos elementos como los carotenoides, la vitamina C, la vitamina E y los flavonoides han sido reportados y extensamente avalados por la ciencia como agentes antioxidantes con capacidad para inhibir la formación de las LDL-ox (Li y cols., 1999; Storniolo y cols., 2019; Yamagata y Yamori, 2019).

La internalización de las ox-LDL en el testículo produce profundos daños en las mitocondrias de las células de Leydig inhibiendo los procesos de biosíntesis esteroidea (Jing y cols., 2020). Además, la peroxidación lipídica bloquea las funciones de transporte de las LDL y reduce la biodisponibilidad del colesterol (Abe y cols., 2022). En consonancia con lo anterior, varios autores han observado que el consumo de TC puede reducir los marcadores de peroxidación lipídica en humanos (Bellido y Maynar, 2017; Sharp y cols., 2021a). Por ello, la ingesta de TC también ha podido ejercer un efecto citoprotector protegiendo a las LDL del daño oxidativo y favoreciendo los procesos estereidogénicos.

Cabe destacar que, a pesar de estos cambios, todos los valores del perfil lipídico se mantuvieron en rangos normales. Como consecuencia, nuestros resultados indican que la suplementación con TC puede tener diferentes efectos sobre el perfil lipídico en función de la dosis suministrada. Ante esta compleja situación, consideramos que se requieren más investigaciones para dilucidar los mecanismos bioquímicos que justifiquen este hallazgo.

En definitiva, los resultados de este trabajo indican que la TC puede afectar al perfil lipídico de diferentes maneras en función de la dosis ingerida. Aunque se observaron aumentos ($p < 0,05$) de las LDL en el GS 200, sus concentraciones se mantuvieron en rangos normales y, dadas las propiedades antioxidantes de la TC así como la posible estimulación estereoidogénica tras su consumo, dichos incrementos podrían ser incluso endocrinológicamente favorables sin llevar asociados riesgos para la salud humana. Sin embargo, son necesarias más investigaciones para dilucidar los mecanismos de acción que subyacen a los anteriores hallazgos. Además, sería especialmente interesante analizar los efectos de la TC sobre la peroxidación lipídica de las LDL.

Con respecto a las concentraciones de las transaminasas, no se produjeron diferencias significativas intra-grupales. Sin embargo, sí se observaron diferencias ($p < 0,05$) durante el primer mes con relación a los valores de GOT entre el GS 200 y el GP, siendo significativamente más bajas ($p < 0,05$) en el GS 200. Igualmente, las concentraciones de GTP en el GS 25 alcanzaron valores significativamente más altos ($p < 0,05$), en comparación con el GS 200 durante el segundo mes de suplementación.

Aunque las concentraciones de GTP en el GS 25 alcanzaron valores significativamente mayores ($p < 0,05$) que las observadas en el GS 200, cabe destacar que siempre se mantuvieron en rangos normales en ambos grupos. Además, las concentraciones de GTP en el grupo que consumió más cantidad de TC tuvieron una tendencia a disminuir con el tiempo, lo cual no concuerda con la respuesta observada en el GS 25 ni con la existencia de posibles elementos tóxicos asociados a la TC.

En este sentido, ha sido reportado que las microalgas pueden incluir ciertos metales pesados relacionados generalmente con la contaminación del entorno en el que se desarrollan estos microorganismos (Monteiro y cols., 2012). La toxicidad de estos elementos se encuentra directamente relacionada con el volumen de ingesta de los mismos, por lo que si existiera algún componente tóxico asociado a la TC, el GS 200

debería tener mayores índices de citotoxicidad que se podrían traducir en aumentos de las concentraciones de las transaminasas (Hall, 2020; Witkowska y cols., 2021). No obstante, este hecho no se registró en los presentes resultados y tampoco se apreciaron incrementos estadísticamente significativos ($p < 0,05$) intra-grupales de las transaminasas, manteniéndose siempre las concentraciones de las mismas en rangos normales.

Además, según el informe científico de AESAN, los lotes de TC distribuidos por la empresa Fitoplacton Marino S.L., utilizados en el presente trabajo, son aptos para el consumo humano sin deducirse efectos negativos para la salud, debido a su composición bioquímica y a las óptimas condiciones de su producción. Por ello, los lotes de TC empleados cumplen con los criterios de aceptación establecidos por el Reglamento (CE) Nº 258/97 sobre nuevos alimentos y nuevos ingredientes alimentarios (Cámara y Conchello, 2017).

Por lo tanto, consideramos que las diferencias observadas en relación con las transaminasas podrían atribuirse a otros parámetros relacionados con el estilo de vida de los participantes que, por motivos metodológicos, no pudieron controlarse.

Cabe resaltar aquí que los resultados obtenidos no concuerdan con los verificados en otros trabajos en los que, tras la suplementación con microalgas, se registraron disminuciones significativas de las transaminasas, asociándose dichos hallazgos con los posibles efectos citoprotectores y antioxidantes mediados por las microalgas, los cuales ya han sido tratados en otros apartados de esta tesis doctoral (Wu, 2020; Yarmohammadi y cols., 2021).

3.3 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LOS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS, ERGOESPIROMÉTRICOS Y DE CONDICIÓN FÍSICA.

En esta sección se recopilan los resultados relacionados con el efecto de la suplementación con TC sobre los parámetros antropométricos, ergoespirométricos y de condición física. Este apartado se encuentra vinculado con el tercer objetivo específico del presente trabajo, relacionado íntimamente con el rendimiento físico-deportivo.

Todos los cambios hormonales, hematológicos y bioquímicos descritos en los anteriores apartados constituyen la base fisiológica de las modificaciones registradas en los parámetros que se analizan a continuación. Esta sección, se divide en tres subapartados diferentes: el primero trata el análisis y la discusión de los parámetros antropométricos,

el segundo describe todo lo relacionado con los resultados ligados a la condición física y, por último, en el tercer subapartado se analizan y se discuten los datos respectivos a la ergoespirometría.

3.3.1. EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LOS PARÁMETROS ANTROPOMÉTRICOS.

En este apartado se agrupan los resultados obtenidos relacionados con los efectos de la suplementación con TC sobre los parámetros antropométricos de los participantes.

La tabla 16 recopila los datos antropométricos obtenidos en las evaluaciones realizadas durante el período experimental. En el GP solo se observó un incremento significativo del peso ($p < 0,05$) durante las dos últimas evaluaciones, en comparación con los valores iniciales y con los obtenidos en el mes 1. En el GS 25 y en el GS 200 durante el mes 2 se evidenciaron aumentos del porcentaje muscular ($p < 0,05$) y disminuciones significativas del porcentaje grasa ($p < 0,05$), con respecto a la evaluación inicial. Además, el GS 200 incrementó significativamente los valores de $\Sigma 6$ pliegues cutáneos ($p < 0,05$) tras cesar la suplementación, en comparación con los niveles del mes 2. Finalmente, en el GS 25 se encontró una disminución significativa de $\Sigma 6$ pliegues cutáneos ($p < 0,05$) durante el mes 2, con respecto a los valores basales.

Por otra parte, en relación con los pliegues y los perímetros individuales, en el GS 25 se verificaron disminuciones ($p < 0,05$) del PT durante el mes 2, en comparación con el mes 1 y con la evaluación inicial. Por el contrario, durante la desadaptación, se registraron incrementos ($p < 0,05$) del PT en estos mismos participantes. Además, en el GS25 el PB aumentó significativamente ($p < 0,05$) durante el mes 1, el mes 2 y la desadaptación, con respecto a la evaluación basal. También, en el GS 25 destacaron los incrementos significativos del PERM durante el mes 2, en comparación con la evaluación inicial. En lo que respecta al GS 200, se registraron disminuciones significativas ($p < 0,05$) del PLIM durante el mes 2, con respecto a los niveles basales. Asimismo, en el GS 200 se apreciaron incrementos significativos ($p < 0,05$) del PB durante el mes 2, en comparación con el mes 1.

Tabla 16. Evolución de los valores antropométricos a lo largo de la investigación.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Peso total (kg)	Basal	72,14±7,18	71,28±8,26	72,29±11,13
	Mes 1	72,18±6,86	72,00±8,55	72,00±11,40
	Mes 2	72,86±6,90 ^{Ω#}	71,10±7,50	72,00±10,81
	Desadaptación	73,12±7,05 ^{Ωμ}	72,60±8,03	72,41±11,12
Σ6 pliegues (mm)	Basal	85,27±23,99	82,14±20,21	87,11±23,50
	Mes 1	86,45±30,24	79,49±21,50	80,95±21,35
	Mes 2	88,95±30,00	77,74±24,70	80,31±20,30 ^Ω
	Desadaptación	88,03±29,36	85,42±31,30 [#]	89,95±27,07
Porcentaje graso (%)	Basal	12,84±2,11	12,98±2,34	13,4±3,65
	Mes 1	13,48±3,12	12,10±2,37	12,94±2,81
	Mes 2	13,94±2,02	11,08±2,93 ^Ω	11,10±2,85 ^Ω
	Desadaptación	13,97±2,55	11,93±3,04	12,17±3,66
Porcentaje muscular (%)	Basal	47,82±2,75	47,39±2,50	47,12±2,56
	Mes 1	47,11±2,50	48,47±3,07	48,79±4,77
	Mes 2	47,89±2,81	48,91±2,10 ^Ω	48,28±2,10 ^Ω
	Desadaptación	47,17±2,27	48,13±3,10	48,66±5,16
PT (mm)	Basal	11,44±5,11	12,80±4,52	11,70±3,86
	Mes 1	12,36±5,32	12,55±4,54	11,17±3,63
	Mes 2	12,58±5,19	11,47±4,49 ^{Ω#}	11,34±3,45
	Desadaptación	13,41±6,00	13,22±5,44 [#]	11,52±3,71
PLIM (mm)	Basal	15,63±5,93	17,01±4,74	17,20±6,74
	Mes 1	17,15±7,12	16,40±4,50	16,08±7,20
	Mes 2	16,33±7,00	16,19±5,80	15,11±6,70 ^{Ω#}
	Desadaptación	17,00±7,17	17,16±6,42	16,00±7,00
PB (cm)	Basal	30,30±2,49	30,21±4,20	29,33±3,50
	Mes 1	30,81±4,44	31,00±4,26 [#]	29,30±3,60
	Mes 2	30,83±2,23	31,82±3,44 ^{Ω#}	30,02±3,53 [#]
	Desadaptación	30,70±2,60	31,46±4,03 ^Ω	29,61±3,27
PERM (cm)	Basal	50,00±5,45	48,47±6,60	49,31±4,77
	Mes 1	48,76±7,31	49,10±7,64	49,20±6,50
	Mes 2	50,09±4,73	50,43±6,00	49,45±6,00
	Desadaptación	50,82±5,00	51,70±5,04 ^{ΩΩ}	50,00±5,00

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; PT: pliegue tricípital; PLIM: pliegue del muslo; PB: perímetro del brazo; PERM: perímetro del muslo.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. [#] p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; ^μ p < 0,05 desadaptación vs, mes 1; ^Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal.

Como puede apreciarse en los resultados, los grupos suplementados con TC tendieron a incrementar el porcentaje de masa muscular y a disminuir el porcentaje graso. Sin embargo, en el GP solo se registraron aumentos del peso total sin observarse ningún otro cambio durante las evaluaciones. Por lo tanto, estos hechos avalan que, muy probablemente, las anteriores fluctuaciones se deban a los efectos de la suplementación con TC. En este aspecto, los cambios antropométricos obtenidos concuerdan drásticamente con las modificaciones hormonales analizadas en los anteriores apartados.

Así, parece lógico deducir que el ambiente endocrinológico generado por la suplementación con TC podría haber inducido las modificaciones antropométricas observadas. Igualmente, otros componentes bioactivos presentes en la TC también han podido influir en estos cambios.

Con respecto a los incrementos registrados de la masa muscular en los grupos suplementados, ambos grupos tuvieron una tendencia ascendente de dichos valores, pero la significación estadística solo se alcanzó durante el segundo mes de suplementación en los dos grupos simultáneamente. Cabe señalar que los aumentos ($p < 0,05$) del porcentaje muscular coincidieron con los incrementos fuertemente significativos ($p < 0,01$) del IGF-1 en ambos grupos suplementados. Además, los incrementos de las concentraciones de TES también coincidieron en el tiempo con las mejoras del porcentaje de masa muscular. Estos hechos son fisiológicamente llamativos y podrían explicar gran parte de los resultados obtenidos.

En consonancia con nuestros hallazgos, Zainul y cols (2020) demostraron que 150 mg/kg de un suplemento de *Chlorella vulgaris* podía mejorar la masa muscular y la fuerza en ratas adultas, asociando dichos efectos al potencial antioxidante de los componentes de *Chlorella* sobre el músculo esquelético (Azlan y cols., 2020). Por otra parte, Bagheri y cols. (2022) verificaron que la suplementación con *Spirulina platensis* durante la pérdida gradual de peso en luchadores competitivos mantenía las concentraciones del IGF-1 estables (Bagheri y cols., 2022). Además, otros autores como Voltarelli y cols. (2008) evidenciaron que el consumo de *Spirulina* en ratas *Wistar* jóvenes podía aumentar la tasa de síntesis de proteínas intramusculares. Todas estas observaciones concuerdan plenamente con nuestros hallazgos (Voltarelli y De Mello, 2008).

Como ya se ha descrito, el IGF-1 es un factor de crecimiento con potentes funciones sobre la proliferación celular. Varias vías de señalización celular se activan en el músculo esquelético en respuesta al IGF-1, por lo que es esencial comprender la interrelación de estas vías para fundamentar los resultados obtenidos. La vía PI3K/Akt es la ruta predominante que estimula la síntesis de proteínas musculares (Clemmons, 2009). De este modo, se ha demostrado que la sobreexpresión de la quinasa Akt da como resultado una hipertrofia del músculo esquelético (Bodine y cols., 2001). Igualmente, ciertos modelos de atrofia se han asociado con una menor activación de la Akt (Léger y cols., 2006).

En condiciones normales, la estimulación de la Akt da como resultado la formación de un complejo de señalización denominado TORC1, incluido en la mTOR (Bar-Peled y Sabatini, 2014). De forma genérica, la activación de la mTORC1 conduce a la fosforilación de la proteína ribosomal S6 quinasa p70S6K y del factor eucariótico iniciador de la translación 4 (4EBPI) (Bar-Peled y Sabatini, 2014). A su vez, la p70S6K fosforila una subunidad ribosómica que es importante y necesaria para la traducción de proteínas musculares. Sin embargo, la 4EBPI actúa como un represor de la traducción pero la fosforilación mediada por Akt inhibe sus funciones (Bar-Peled y Sabatini, 2014; Clemmons, 2009).

La akt también fosforila el llamado complejo de esclerosis tuberosa 2-tuberina (TSC2) (Huang y Manning, 2009). El TSC2 funciona constitutivamente regulando a la baja la activación de mTOR (Clemmons, 2009). Cuando la Akt fosforila los residuos críticos de TSC2 da como resultado una inhibición de su actividad maximizando la función de la mTOR, que permite una mayor traducción de proteínas (Inoki y cols., 2002).

Además de estimular la síntesis de proteínas, el IGF-1 inhibe la degradación de las mismas (Clemmons, 2009; Kwak y cols., 2012). La degradación de las proteínas musculares se produce, en gran parte, después de la inducción de las distintas enzimas ubiquitina ligasas (Nandi y cols., 2006). La ubiquitinización dirigida a proteosomas específicos requiere la activación de tres proteínas distintas, que son las siguientes: en primer lugar la enzima activadora de la ubiquitina, en segundo lugar la enzima conjugadora de la ubiquitina y en tercer lugar la enzima ligadora de la ubiquitina (Nandi y cols., 2006). Esta última enzima confiere especificidad en la degradación proteica pues permite seleccionar a las proteínas que se dirigen al proteosoma para su degradación (Kitajima y cols., 2020). En este sentido, se ha demostrado que el IGF-1, a través de la vía PI3K/Akt/FoxO, puede inhibir la formación de ciertas enzimas ubiquitinas ligasas como la caja MuRF-1 y la atrogina-1 (AMF), lo que reduce la orientación de las proteínas para su degradación, disminuyendo las tasas del catabolismo proteico muscular (Clemmons, 2009).

Como ya se ha descrito en anteriores secciones, se requiere la translocación nuclear y la unión de los FoxO al ADN para que estos puedan funcionar correctamente (Sanchez y cols., 2014). Estos factores de transcripción son cruciales para la síntesis de ubiquitinas ligasas pero cuando los FoxO son fosforilados por la Akt se excluyen del núcleo celular, suprimiéndose los procesos transcriptivos de MuRF-1 y de MAFs, por lo que se inhiben

los mecanismos de degradación de las proteínas en el proteosoma (Clemmons, 2009; Sanchez y cols., 2014; Timmer y cols., 2018).

Esto ha sido corroborado mediante estudios en humanos que han reforzado la importancia del IGF-1 en la regulación del equilibrio proteico. Diversas mediciones de la síntesis de proteínas musculares analizadas por el flujo de fenilalanina intramuscular durante su infusión en el antebrazo demuestran que tanto la hormona de crecimiento como el IGF-1 aumentan significativamente la síntesis de proteínas intramusculares y que el IGF-1 posee efectos inhibitorios sobre la degradación proteica en humanos (Fryburg, 1994). Otros estudios han verificado que el IGF-1 inhibe la degradación de proteínas musculares y estimula la síntesis de las mismas en población con altos índices de catabolismo proteico, incluidos los pacientes quemados y con traumatismos craneoencefálicos (Hatton y cols., 2006; Martini y cols., 2021). Estos hallazgos ponen de manifiesto el papel fundamental que ejerce el IGF-1 en los procesos de regulación del crecimiento muscular en los seres humanos, constituyendo una de las hormonas anabólicas más potentes descubiertas hasta la fecha.

Por otra parte, cabe destacar que el músculo esquelético es un tejido post-mitótico, es decir, no tiene la capacidad de reponer significativamente sus células durante la vida adulta (Tabebordbar y cols., 2013). Por ello, el músculo esquelético necesita un sistema eficiente para regenerarse y evitar la muerte celular. En este sentido, las células satélite musculares son esenciales para la regeneración del músculo esquelético pues constituyen la fuente de células miogénicas necesarias para el crecimiento y la reparación de las miofibrillas a lo largo de la vida (Sousa-Victor y cols., 2021). La proliferación de las células satélite da lugar a mioblastos que pueden diferenciarse y formar miotubos multinucleados con gran capacidad de síntesis proteica (Blaauw y Reggiani, 2014). Se ha teorizado que, a través de diversos mecanismos quimiotácticos, estos núcleos pueden ser cedidos a las miofibrillas ya existentes y, como consecuencia, pueden aumentar su capacidad de generar nuevas proteínas (Schoenfeld, 2010). Las células satélite, permanecen en estado de reposo en condiciones normales. Sin embargo, cuando el músculo se daña estas células se activan y entran en fases del ciclo celular para producir células progenitoras musculares que puedan regenerar las miofibrillas dañadas e incluso generar otras nuevas (Blaauw y Reggiani, 2014; Schoenfeld, 2010).

Ha sido demostrado que las células satélite musculares pueden sintetizar otras isoformas del IGF local que actúan, casi exclusivamente, sobre el músculo esquelético

(Machida y Booth, 2004). De este modo, las lesiones musculares estimulan la producción del IGF local activando tanto la proliferación como la diferenciación de las células satélite hacia los mioblastos (Hill y cols., 2003). Este hecho constituye un mecanismo de defensa que actúa rápidamente para comenzar la reparación tisular en el músculo esquelético. En relación con esto, se ha verificado que el IGF-1 sistémico también puede estimular la proliferación y la diferenciación de mioblastos en ausencia de lesión muscular debido a la presencia del IGF-1R en las células satélite (Clemmons, 2009; Engert y cols., 1996). Por ello, el IGF-1 estimula la división de las células precursoras y la diferenciación de los mioblastos para formar mionúcleos postmitóticos que incrementan la síntesis de proteínas musculares (Adi y cols., 2002).

Parece ser que las respuestas de las células musculares diferenciadas y las células satélite se coordinan entre sí, lo que permite que el IGF-1 regule tanto la síntesis proteica muscular como la expansión y el número de mioblastos que, en definitiva, da como resultado un aumento del tamaño de la fibra muscular (Clemmons, 2009).

Por lo tanto, los incrementos de las concentraciones del IGF-1 sistémicas en los grupos suplementados con TC han podido inducir un aumento de la actividad bioseñalizadora de dicha hormona, desencadenando la elevación de los porcentajes musculares observados en los participantes que consumieron la microalga.

La TES es otra hormona crucial para analizar la explicación de los resultados de esta investigación. En este aspecto, en los grupos suplementados se observaron aumentos y diferencias significativas ($p < 0,05$) de las concentraciones de TES. Al igual que el IGF-1, la TES representa una hormona con potentes actividades anabólicas (Urban, 2011). Una de las principales diferencias con respecto al IGF-1 es que la TES constituye una hormona esteroidea y, por ello, posee distintas rutas metabólicas y diferentes mecanismos de acción (Rommerts, 1998).

La TES en su forma libre, debido a su liposolubilidad, posee la capacidad de atravesar las membranas celulares para, posteriormente, unirse al receptor de andrógenos citosólico y producir una serie de modificaciones que inducen el transporte del complejo receptor de andrógeno-testosterona hacia el núcleo celular, en el que regula positivamente la transcripción de los genes implicados en la síntesis de proteínas musculares y negativamente a los involucrados en el catabolismo proteico (Fink y cols., 2017). Así, generalmente las acciones anabolizantes de la TES se han asociado a su facultad de

incrementar directamente la síntesis proteica y a su capacidad de reducir la proteólisis. Además, como ya se ha detallado en el primer apartado de la discusión, la TES puede incrementar la secreción de otros factores anabolizantes como el IGF-1 (Hobbs y cols., 1993).

Del mismo modo, se ha evidenciado que los mioblastos poseen receptores androgénicos (Dong, 2002). De acuerdo con esta idea, se ha demostrado que la proliferación de las células satélite se encuentra vinculada de una forma dosis-dependiente con las concentraciones de TES, teniendo dicha hormona la capacidad de aumentar tanto el número como la diferenciación de los mioblastos (Schoenfeld, 2016).

Gracias a los anteriores mecanismos fisiológicos, los aumentos de la TES han podido contribuir notablemente a incrementar el porcentaje muscular de los participantes que se suplementaron con TC.

Por otra parte, cabe destacar que algunos componentes bioactivos presentes en la TC también han podido influir en los resultados observados. Principalmente, algunos elementos liposolubles y la posible existencia de péptidos bioactivos anabólicos en la TC se podrían relacionar con el incremento del porcentaje de la masa muscular registrado en los grupos suplementados.

Los AGPI son elementos liposolubles que pueden estar vinculados con las respuestas musculares anabólicas. Se ha verificado que los AGPI pueden modificar la permeabilidad de las membranas celulares (Schoenfeld, 2016). En este sentido, las membranas biológicas constituyen un elemento clave tanto en la regulación del transporte de nutrientes y hormonas al interior celular como en las funciones de bioseñalización celular (Hall, 2020). Es bien conocido que cuando las membranas celulares pierden sus propiedades se impermeabilizan, mermándose las funciones de comunicación celular con el entorno, lo que implica la inhibición de diferentes procesos celulares, como la síntesis de proteínas (Banfalvi, 2016). Sin embargo, las membranas celulares que poseen una gran permeabilidad posibilitan que los mensajeros secundarios y ciertas moléculas relacionadas con la síntesis de proteínas se introduzcan fácilmente en el citoplasma (Banfalvi, 2016; Hall, 2020). Esto constituye el fundamento biológico de los efectos favorables que los AGPI pueden poseer sobre la síntesis de proteínas musculares (López-Seoane y cols., 2021).

Algunos estudios en humanos y en animales han verificado que la suplementación con AGPI n-3 produce mayores tasas de síntesis de proteínas musculares en comparación con otras clases de grasas (López-Seoane y cols., 2021). En relación con estos hallazgos, una reciente revisión sistemática realizada por López-Seoane y cols (2022), que incluía 7 estudios con un total de 192 individuos, concluyó que la suplementación con AGPI n-3 puede mostrar efectos beneficiosos en la tasa de síntesis fraccional de proteínas musculares (López-Seoane y cols., 2022). Estos autores también observaron mejoras en la señalización de la p70S6K, lo que concuerda con lo establecido por otros grupos de investigación que sostienen que los AGPI n-3 pueden mejorar la permeabilidad de las membranas celulares favoreciendo la vía mTOR/akt (Schoenfeld, 2016).

En lo que respecta a los péptidos bioactivos, se ha demostrado que el alga *Pyropia yezonensis* posee en su composición proteica un péptido bioactivo con propiedades antiatróficas, denominado como PYP15 (Subramaniyan y cols., 2021). A través de modelos *in vitro* se ha demostrado que el PYP15 puede disminuir la expresión de los genes que codifican para la atrogina-1 y la MuRF1 en células C2C12 inducidas por dexametasona (Lee y cols., 2017). También, otros autores han observado que el mecanismo antiatrófico principal del PYP15 consiste en la mejora de la señalización de las vías mTOR/akt y de las akt/foxO inducidas por el IGF-1 (Lee y cols., 2019). Además, el PYP15 posee la capacidad de optimizar la fosforilación del IGF-1R y de la p70S6K, lo cual desencadena un aumento de la tasa de síntesis proteica muscular favoreciéndose los procesos hipertróficos (Lee y cols., 2019). Estos hallazgos revelan que el PYP15 fomenta el crecimiento muscular de forma similar al IGF-1, es decir, aumenta la tasa de síntesis de proteínas musculares e inhibe el catabolismo proteico. Siempre es importante tener en consideración la posible influencia de los péptidos bioactivos, pues se encuentran presentes en la gran mayoría de microalgas marinas, aunque estos todavía no se hayan detectado en la TC.

Actualmente los estudios que han evaluado los efectos de la TC sobre el músculo esquelético humano son prácticamente inexistentes. En este aspecto, en nuestro anterior estudio llevado a cabo por Toro y cols. (2020) observamos que el porcentaje de masa muscular en los futbolistas suplementados con TC seguía una tendencia ascendente pero sin llegar a la significación estadística ($p < 0,05$) (Toro y cols., 2020). Por otra parte, Ramirez y cols. (2020) comprobaron mediante un modelo *in vitro* en mioblastos humanos que la TC regulaba positivamente los genes que codificaban para las enzimas

antioxidantes pudiendo favorecer los procesos de crecimiento y de regeneración muscular (Ramírez y cols., 2020). Estos hechos fueron corroborados mediante modelos *in vivo* por los autores Sharp y cols. (2021) en cuyo trabajo demostraron que la suplementación con TC en humanos podía atenuar el daño muscular inducido por el ejercicio (Sharp y cols., 2021). Igualmente, estos mismos autores observaron en ratas que la capacidad antioxidante intramuscular aumentó de forma dependiente de la dosis de TC administrada (Sharp y cols., 2021). Según estos autores, la TC opera en el músculo esquelético mediante sus mecanismos antioxidantes, previniendo el daño muscular y promoviendo los procesos de regeneración tisular. Por ello, los componentes bioactivos antioxidantes de la TC podrían optimizar la actividad de las enzimas encargadas de la biosíntesis de proteínas musculares favoreciendo los incrementos del porcentaje muscular observados en este trabajo (Marzani y cols., 2008).

Considerando todos los mecanismos fisiológicos y los hallazgos mencionados, el posible efecto anabólico asociado al consumo de TC puede deberse a una compleja interacción de los factores ya descritos. En primer lugar, los incrementos de las hormonas anabólicas favorecen este hecho (Timmer y cols., 2018). En segundo lugar, la posible optimización de la fluidez de las membranas plasmáticas mediada por los AGPI n-3 presentes en la TC ha podido promover tanto la acción de las hormonas esteroideas, facilitando su transporte al interior celular, como la acción de las hormonas peptídicas, mejorando sus vías de señalización celular iniciadas desde los receptores de la membrana plasmática (López-Seoane y cols., 2021). En tercer lugar, la presencia de algún péptido bioactivo de carácter anabólico también ha podido influir en los incrementos del porcentaje muscular (Lee y cols., 2019). Por último, las propiedades antioxidantes de TC podrían optimizar la actividad de las enzimas encargadas de la biosíntesis de proteínas musculares (Powers, 2014).

En cuanto al porcentaje graso, se detectaron disminuciones significativas ($p < 0,05$) durante el segundo mes en los dos grupos suplementados. Sin embargo, tras anular la suplementación se observó una clara tendencia al aumento de la masa grasa, verificada tanto por el aumento del porcentaje graso como por el incremento del sumatorio de los seis pliegues subcutáneos durante la desadaptación en ambos grupos. Estos hechos pueden indicar que la suplementación con TC tuvo efectos lipolíticos sobre el tejido adiposo de los participantes.

Nuestros resultados coinciden con diversos trabajos en humanos que han asociado la suplementación con diversas microalgas con ciertos parámetros del metabolismo lipídico. De este modo, Hernandez-Lepe y cols. (2017) verificaron en 52 hombres jóvenes con obesidad que una dosis de 4,5 g/día de *Spirulina* mejoraba los valores del índice de masa corporal (IMC) (Hernández-Lepe y cols., 2019). En concordancia con estos hallazgos, Szulinska y cols. (2017) observaron que cuatro dosis diarias de 500 mg de *Spirulina* podrían disminuir el IMC y el perímetro de la cintura (Szulinska y cols., 2017). También, Yousefi y cols. (2018) evidenciaron que la suplementación con *Spirulina* podía reducir la masa grasa corporal (Yousefi y cols., 2018). No obstante, los estudios en humanos que han evaluado los efectos de las microalgas sobre el tejido adiposo son escasos y poseen metodologías poco precisas.

Por otra parte, existe un gran cuerpo de evidencias con sofisticadas metodologías tanto en animales como en modelos *in vitro* que respaldan a las microalgas como compuestos biológicos con propiedades anti-obesidad (Eseberri y cols., 2019). Parece ser que el mecanismo subyacente a este efecto radica en diversas modificaciones de la vía adipogénica (Sugimoto y cols., 2018). La adipogénesis es un proceso de diferenciación celular, estrechamente regulado, que permite la expansión del tejido adiposo (Rodriguez y cols., 2004). En este proceso, las células madre mesenquimales se convierten en preadipocitos y, a su vez, estos se diferencian en adipocitos maduros con la capacidad de almacenar triglicéridos en gotas de lípidos (Cawthorn y cols., 2012). Los principales elementos reguladores de la diferenciación de los adipocitos son el receptor γ activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR γ) y la proteína α de unión al potenciador de CCAT (C/EBP α) (Lefterova y Lazar, 2009). Con relación a estos elementos, se ha observado *in vitro* que las microalgas pueden inhibir la expresión de los genes que codifican para PPAR γ y para C/EBP α reduciendo la diferenciación de los pre-adipocitos y, por ende, los procesos lipogénicos de almacenamiento (Sugimoto y cols., 2018).

Curiosamente, estas observaciones también se han cumplido en animales utilizando modelos *in vivo*, a través de los cuales se han registrado disminuciones del PPAR γ y de la C/EBP α en el tejido adiposo tras la suplementación con microalgas (Eseberri y cols., 2019). Además, Sakanoi y cols. (2018) observaron incrementos de la lipasa sensible a hormonas en el tejido adiposo de ratones macho tras el consumo de *Euglena gracilis* durante 8 semanas (Sakanoi y cols., 2018). Los autores registraron disminuciones del tejido adiposo total, del adiposo perirrenal y del adiposo epindimario en las ratas

suplementadas con la microalga, asociándose estos efectos con los incrementos de la actividad enzimática de la lipasa sensible a hormonas. Cabe mencionar que otros estudios pre-clínicos en animales han demostrado que la suplementación con microalgas puede incrementar la actividad del tejido adiposo pardo, aumentando la tasa metabólica basal y favoreciéndose los procesos lipolíticos (Eseberri y cols., 2019; Guo y cols., 2019).

Del mismo modo, también se ha evidenciado en animales que algunos extractos de microalgas pueden inducir el aumento de la expresión de genes que codifican para moléculas con funciones importantes en la biogénesis mitocondrial, como las sirtuinas 1 (SIRT1) o el coactivador 1 α del receptor activado por el proliferador de peroxisoma alfa (PGC-1 α) (Heo y Choung, 2018; Seo y cols., 2018a). Por ello, el efecto anti-obesidad de las microalgas se puede fundamentar tanto por su capacidad para inhibir los procesos adipogénicos como por su capacidad para incrementar las funciones lipolíticas y oxidativas de los lípidos. En este sentido, aunque aún no se han detectado con exactitud los componentes bioactivos de las microalgas que generan dichos efectos, según los autores, todo apunta a que los carotenoides podrían cumplir un papel crucial en los anteriores procesos biológicos (Sugimoto y cols., 2018).

Por otra parte, los incrementos de la TES registrados en los participantes suplementados podría explicar parte de los resultados obtenidos. Desde hace décadas, es bien conocido que la TES puede incrementar los procesos lipolíticos y el número de beta-receptores en los adipocitos, sensibilizándolos a la acción de las catecolaminas (Arner, 2005; Xu y cols., 1991). Igualmente, se ha demostrado que la TES inhibe la captación lipídica y la actividad de la lipoproteína lipasa en los adipocitos (De Pergola, 2000). Además, la TES puede inhibir la diferenciación de los pre-adipocitos reduciendo los procesos lipogénicos de almacenamiento (De Pergola, 2000). De acuerdo con estos datos, el tratamiento de células multipotentes C3H 10T1/2 de ratón con TES inhibe la diferenciación adipogénica a través de una disminución de PPAR γ (Singh y cols., 2003).

Además de los posibles efectos lipolíticos de la TES, el posible aumento de la sensibilidad de la GH, ampliamente reconocida por sus efectos lipolíticos y anabólicos, ha podido favorecer en los grupos suplementados tanto la disminución del porcentaje graso como el aumento de la masa muscular de estos participantes (Kopchick y cols., 2019). Como se ha mencionado anteriormente, la presencia del FGF-21 en los compartimentos histológicos crea resistencia a la GH (Akkar y cols., 2022). Este factor también se expresa de manera considerable en el tejido adiposo y en el tejido muscular

(Akkar y cols., 2022). Es posible que los AGPI n-3 presentes en la TC reduzcan la expresión del FGF-21 en dichos tejidos, potenciándose así los efectos lipolíticos de la GH. De la misma forma, los posibles efectos estimulantes de la TES sobre la GH y el IGF-1 han podido influir positivamente sobre la secreción y la sensibilidad de ambas hormonas (Birzniece, 2018).

Finalmente, es interesante apreciar que la combinación de los efectos lipolíticos y anabólicos, creados por el peculiar ambiente neuroendocrinológico posiblemente producido por la ingesta de TC, se puede ver reflejada en los valores de los perímetros y de los pliegues corporales medidos en el brazo y en el muslo. De forma general, se puede observar que durante el período de suplementación los participantes que consumieron la microalga mantuvieron una tendencia incremental en los valores de los perímetros musculares y, paralelamente, siguieron una tendencia negativa en los niveles de los pliegues de grasa subcutánea. Contrariamente, el GP experimentó tendencias opuestas con respecto a los pliegues subcutáneos en comparación con los grupos suplementados. Además, los perímetros musculares del GP permanecieron inalterados.

Estos hechos reafirman las disminuciones del porcentaje graso y los aumentos del porcentaje muscular observados en el GS 25 y en el GS 200. Por lo tanto, es plausible pensar que el consumo de TC en los grupos suplementados podría haber inducido el crecimiento de la sección transversal muscular tanto en las extremidades superiores como en las inferiores, a través de un incremento de la tasa de acreción de proteínas intramusculares, incluso en ausencia de entrenamiento. Esto constituye el primer indicio de que la TC podría poseer propiedades ergogénicas.

Por otra parte, tal y como se aprecia en la tabla 11 los participantes no alteraron los componentes básicos de la dieta durante el período experimental. Además, todos los individuos comenzaron la investigación con niveles similares de todas las variables evaluadas en el presente trabajo, sin detectarse ninguna diferencia significativa intergrupala en las evaluaciones basales. Esto corrobora aún más que los cambios antropométricos observados en este trabajo pueden deberse a los efectos de la suplementación con TC.

Es importante resaltar aquí que las modificaciones registradas de la composición corporal pueden ser muy útiles en el campo del rendimiento físico-deportivo. La optimización o conservación de las ganancias musculares y la reducción o limitación de

los aumentos de la masa grasa son objetivos muy perseguidos en una gran variedad de modalidades deportivas (Bompa, 2017; Chicharro y López, 2006; Platonov, 1995). Por lo tanto, nuestros datos avalan que, posiblemente, debido al ambiente endocrinológico propiciado por la suplementación con TC, esta microalga podría aplicarse para acelerar los procesos regenerativos tras el daño muscular inducido por el ejercicio e incluso durante ciertos momentos de la temporada en los que el deportista deba optimizar su composición corporal.

3.3.2. EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LOS PARÁMETROS DE CONDICIÓN FÍSICA.

En este subapartado se exponen los resultados y la discusión de los datos relacionados con la condición física de los participantes. Siguiendo el hilo conductor lógico de toda la sección, los cambios antropométricos, hormonales y hematológicos pueden fundamentar gran parte de las modificaciones observadas en los parámetros que se describen en este subapartado.

Para optimizar la distribución de los resultados y sus correspondientes análisis, este apartado se divide, a su vez, en dos subapartados: el primero se orienta al análisis y discusión de los datos referentes a las presiones arteriales, mientras que el segundo se vincula con los resultados obtenidos pertenecientes a los parámetros de fuerza isométrica máxima y de la flexibilidad.

3.3.2.1 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LAS PRESIONES ARTERIALES.

La tabla 17 recopila la información sobre la evolución de las presiones arteriales de los participantes a lo largo de la investigación. Como se puede apreciar, no existieron diferencias significativas ($p < 0,05$) en el GP durante el transcurso de todas las valoraciones. En la misma línea, el GS 25 tampoco alcanzó la significancia estadística ($p < 0,05$) en ninguna evaluación. Sin embargo, en el GS 200 se registraron incrementos de la PAS pre durante la desadaptación, con respecto al mes 2 y disminuciones significativas ($p < 0,05$) de PAD pre en el mes 2, en comparación con la evaluación inicial. Por otra parte, es llamativo observar que las tendencias de PAS pre y de PAD post en los grupos suplementados son claramente descendentes, situación que no se ha dado en el GP.

Tabla 17. Evolución de las presiones arteriales a lo largo del período experimental.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
PAS pre (mmHg)	Inicio	122,43±6,07	125,66±12,39	126,11±8,68
	Mes 1	119,00±7,56	124,00±9,41	120,64±8,40
	Mes 2	121,10±7,50	122,58±10,22	118,91±9,04
	Desadaptación	120,87±11,66	129,08±11,91	128,60±11,00 #
PAD pre (mmHg)	Inicio	70,21±6,30	74,00±3,70	76,70±6,54
	Mes 1	64,62±9,50	70,66±8,33	74,81±8,23
	Mes 2	67,06±10,52	68,83±6,19	70,25±8,52 Ω
	Desadaptación	67,68±8,00	73,75±8,46	73,90±7,70
PAS post (mmHg)	Inicio	130,23±22,19	135,62±12,12	134,22±17,61
	Mes 1	134,00±11,14	135,66±11,30	132,33±13,00
	Mes 2	125,80±18,56	137,50±13,15	133,83±15,53
	Desadaptación	124,62±14,70	136,00±19,00	127,25±10,57
PAD post (mmHg)	Inicio	70,54±14,27	79,62±12,59	77,70±14,23
	Mes 1	73,37±9,34	81,25±9,94	79,25±17,45
	Mes 2	73,06±13,62	79,08±14,16	72,92±15,30
	Desadaptación	66,43±11,80	73,45±14,20	72,16±9,00

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; PAS pre: presión arterial sistólica basal ; PAD pre: presión arterial diastólica basal ; PAS post: presión arterial sistólica tras los tres minutos de recuperación de la prueba ergoespirométrica ; PAD post: presión arterial diastólica tras los tres minutos de recuperación de la prueba ergoespirométrica.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. # p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal.

Además, cuando se suprimió la suplementación con TC los valores de PAS pre y PAD post volvieron a elevarse retornando hacia los niveles iniciales, incluso pudiéndose apreciar aumentos significativos ($p < 0,05$) de la PAS pre en el GS 200 tras dejar de suplementarse durante un mes. Contrariamente, no se detectaron cambios en los valores de PAS post y PAD post. Estos hechos son fisiológicamente representativos pues indican que, tal vez, los cambios observados se deban a la suplementación con TC.

Estos resultados coinciden con los reportados por un gran cuerpo de evidencias científicas que avala los potenciales efectos antihipertensivos de las microalgas. En este sentido, se ha establecido que el principal mecanismo antihipertensivo de las microalgas se debe a la presencia de ciertos péptidos bioactivos inhibidores de la ECA (Samarakoon y Jeon, 2012). De acuerdo con esta idea, Suetsuna y cols. (2001) demostraron que una dosis única de 200mg/kg de la fracción peptídica de *Chlorella vulgaris* administrada en ratas reducía la presión arterial sistólica de 1 a 4 horas, observándose el efecto

antihipertensivo más alto tras la primera hora (Suetsuna y Chen, 2001a). También, Ochoa-Mendez y cols. (2016) verificaron que la administración en ratas de un liofilizado de *Chlamydomonas reinhardtii* por vía transgástrica disminuyó los valores de presión arterial sistólica (Ochoa-Méndez y cols., 2016). Por otra parte, Xie y cols. (2018) comprobaron que los péptidos TTW y VHW de *Chlorella vulgaris* eran efectivos para disminuir la presión arterial diastólica en ratas (Xie y cols., 2018). En concordancia con los anteriores resultados, Barkia y cols. (2019) observaron que la administración oral de hidrolizados de proteínas de *Bellerochea malleus* redujo la presión arterial en ratas incluso tras 5 días sin consumirlos (Barkia y cols., 2018). Todos estos autores asociaron el potencial antihipertensivo de las microalgas a la presencia de algunos péptidos bioactivos.

Los péptidos bioactivos antihipertensivos, como ya se ha descrito en la introducción, ejercen sus funciones inhibitorias sobre la ECA a través de estrategias competitivas y no competitivas (Jiang y cols., 2021a). La ECA es una enzima ubicua en los tejidos humanos que participa en los sistemas de regulación de la presión arterial (Hall, 2020). De forma muy resumida, la ECA convierte la angiotensina I en angiotensina II que posee la capacidad tanto de promover la vasoconstricción como de inducir la secreción de aldosterona en la glándula suprarrenal (Hall, 2020). Por una parte, la vasoconstricción aumenta la resistencia del flujo vascular, desencadenando un aumento de la presión arterial, por otra, la aldosterona posee la función de aumentar la reabsorción de sodio y agua actuando principalmente a nivel del túbulo contorneado distal y del túbulo colector de la nefrona (Hall, 2020; Leung, 2005). Este mecanismo, al igual que el anterior, desencadena el aumento de la presión arterial (Hall, 2020; Leung, 2005). Por ello, la inhibición de esta enzima ha sido uno de los objetivos terapéuticos más perseguidos en los últimos años para combatir la hipertensión arterial, debido al importante papel de la ECA en la regulación de la presión arterial (Helmer y cols., 2018).

Hasta la fecha no se ha reportado la existencia de péptidos bioactivos antihipertensivos en la TC. Sin embargo, es esencial considerar la posible existencia de los mismos en la composición proteica de la TC debido a los numerosos trabajos que han detectado péptidos con propiedades antihipertensivas en las microalgas eucarióticas. Este hecho podría fundamentar una gran parte de los resultados obtenidos.

Por otra parte, las disminuciones altamente significativas ($p < 0,01$) del recuento de las plaquetas en los grupos suplementados también han podido influir en estos hallazgos. Se

ha evidenciado que las plaquetas poseen un rol importante en la fisiopatología hipertensiva (Dockrell y cols., 1999). En este aspecto, es bien conocido que el aumento del recuento plaquetario y de la actividad plaquetaria incrementan la liberación de mediadores vasoactivos que inducen el vasoespasmo local y la elevación de la agregación plaquetaria (Ceyhan y cols., 2006; Dockrell y cols., 1999; Thaulow y cols., 1991). Como consecuencia de lo anterior, se producen aumentos de la viscosidad sanguínea y de la resistencia vascular, lo cual puede contribuir notablemente en los aumentos de la presión arterial (Hall, 2020; Parati y cols., 2020).

Por lo tanto, los fuertes decrementos ($p < 0,01$) del recuento plaquetario observados en los grupos suplementados han podido conducir a una optimización de la fluidez sanguínea que podría favorecer las disminuciones de las presiones arteriales registradas.

Igualmente, otros compuestos presentes en la TC que podrían inducir cambios en las presiones arteriales son los carotenoides y los AGPI n-3. En este aspecto, se ha evidenciado que los carotenoides como la astaxantina, presente en las especies del género *Tetraselmis*, pueden reducir la presión arterial a través de distintos mecanismos (Hussein y cols., 2006). Diversos autores sugieren que los efectos antihipertensivos de los carotenoides pueden ejercerse a través de una disminución de la sensibilidad de los receptores adrenérgicos de tipo α en los vasos sanguíneos periféricos, lo cual favorecería la vasodilatación (Hall, 2020; Fakhri y cols., 2018; Hussein y cols., 2006). También se ha observado que, por mecanismos aún desconocidos, la astaxantina puede atenuar las concentraciones de angiotensina II que, junto a sus propiedades antioxidantes, le otorgan la capacidad de reducir la vasoconstricción inducida por las ERO (Fakhri y cols., 2018; Hussein y cols., 2006). Adicionalmente, algunos datos indican que los carotenoides pueden optimizar la síntesis de óxido nítrico, favoreciendo la dilatación vascular y la fluidez sanguínea (Bhatt y Patel, 2020; Hussein y cols., 2006).

Con relación a los AGPI n-3, los estudios en humanos han demostrado que estas moléculas pueden ejercer efectos antihipertensivos mediante mecanismos dependientes del endotelio vascular (Gammone y cols., 2018). Especialmente, se ha verificado que los AGPI n-3 inducen la relajación endotelial mediante la liberación de ON (Bercea y cols., 2021). En este sentido, se ha demostrado que los AGPI n-3 pueden inducir la fosforilación y la activación de la enzima óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS), provocando el incremento de las concentraciones de ON endotelial (Li y cols., 2007).

Esto ha sido corroborado por múltiples estudios donde se ha evidenciado que cuando se incluyen en la dieta a largo plazo diversos AGPI n-3 complementarios, generalmente aumenta la producción de ON endotelial y los niveles de vasodilatación (Bercea y cols., 2021). En consonancia con esto, Vilapando y cols. (2015) evidenciaron que en ratas orquidectomizadas la suplementación a largo plazo con AGPI n-3 restauraba la producción de ON (Villalpando y cols., 2015). También, Omura y cols. (2001) observaron que la administración a corto plazo de AGPI n-3 inducía el aumento de las concentraciones de ON endotelial en la arteria aorta bovina (Omura y cols., 2001). Más recientemente, Zgheel y cols. (2019) demostraron que en arterias mamarias humanas el EPA y el DHA combinados en una proporción 6:1 provocaban una vasodilatación dependiente del endotelio a través de la formación de ON (Zgheel y cols., 2019).

Adicionalmente, también se han establecido otros mecanismos de acción que los AGPI n-3 podrían llevar a cabo. De acuerdo con esto, el EPA y el DHA obtenidos mediante el procesamiento de los AGPI n-3 en el medio interno, pueden metabolizarse en el organismo humano por la acción de las epooxigenasas CYP450 transformándolos en epóxidos grasos (Wang y cols., 2011). Estas últimas moléculas poseen la capacidad de causar vasodilatación a través de la activación de los canales de K⁺ calciodependientes (Bercea y cols., 2021). La estimulación de dichos canales produce la hiperpolarización de las células musculares lisas endoteliales desencadenando, finalmente, la relajación del endotelio vascular (Hall, 2020).

Consecuentemente, el contenido en carotenoides y en AGPI n-3 de la TC ha podido contribuir, junto con la posible actividad antiplaquetaria y algún péptido bioactivo, a las reducciones de las presiones arteriales observadas.

Finalmente, en la actualidad, no existen trabajos que justifiquen el poder antihipertensivo de la TC. En cambio, en la presente investigación se han observado decrementos significativos ($p < 0,05$) y tendencias negativas de los valores de las presiones arteriales en los individuos que se suplementaron con TC. Por otra parte, resalta a la vista que las presiones arteriales tienden a volver a los valores basales, incluso superándolos, al finalizar la suplementación con TC. Es posible que, tras la ausencia repentina de la acción inhibitoria de los péptidos sobre la ECA, se haya generado un incremento compensatorio de la actividad de esta enzima que podría conducir a una mayor producción de angiotensina II y de aldosterona. Este hecho podría provocar un incremento del volumen plasmático, que se encuentra directamente relacionado con los incrementos

de las presiones arteriales. Asimismo, este acontecimiento también podría explicar el posible fenómeno de hemodilución, ya citado, que produjo las reducciones del hematocrito durante la desadaptación en los grupos suplementados.

En definitiva, es importante investigar más sobre los mecanismos de acción que han podido propiciar las disminuciones de las presiones arteriales, pues es necesario aclarar las numerosas posibilidades que se van planteando a lo largo de este trabajo.

3.3.2.2 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LA FUERZA MUSCULAR Y LA FLEXIBILIDAD.

La tabla 18 recoge los datos relacionados con los valores de la fuerza muscular y la flexibilidad, registrados a lo largo de la investigación.

Puede apreciarse que el GP incrementó los valores de PMD durante el mes 2 y la desadaptación, en comparación con los niveles iniciales y los del mes 1. Asimismo, en este grupo se detectaron elevaciones significativas ($p < 0,05$) de la variable FTI durante el mes 1, el mes 2 y la desadaptación, con respecto a los valores iniciales. Además, los participantes del GP incrementaron ($p < 0,05$) la FPT durante el mes 1 y la desadaptación, en comparación con la evaluación inicial.

Por otra parte, en el GS 25 se identificaron aumentos significativos ($p < 0,05$) de la PMI durante el mes 1, el mes 2 y la desadaptación, con respecto a los valores iniciales, mientras que los niveles de PMD solo aumentaron significativamente ($p < 0,05$) durante el mes 2, en comparación con la evaluación inicial. Además, en este mismo grupo, cabe destacar los incrementos fuertemente significativos ($p < 0,01$) que se registraron de la FTI durante el mes 2, con respecto a los niveles basales y también se observaron aumentos de esta misma variable con menores significancias ($p < 0,05$), en comparación con el mes 1. Igualmente, en el GS 25 se identificaron elevaciones ($p < 0,05$) de la FPT durante el mes 2, en comparación con los valores registrados durante el mes 1 y la evaluación inicial.

Finalmente, en el GS 200, se observaron aumentos ($p < 0,05$) de la PMI durante el mes 2, con respecto a los valores registrados inicialmente. También, existieron incrementos ($p < 0,05$) de la PMD apreciados durante el mes 2 y la desadaptación, en comparación con los niveles basales. Son llamativos los fuertes incrementos ($p < 0,01$) de la FTI identificados en el GS 200 durante el mes 1 y el mes 2, en comparación con la evaluación inicial. Además, en este mismo grupo, la FPT aumentó significativamente ($p < 0,05$) en el mes 2, con respecto a los niveles basales. Es reseñable, que el GS 200 fuera el único grupo

donde se registraron diferencias significativas ($p < 0,05$) en la FA ($p < 0,05$) durante el mes 1 y la desadaptación, en comparación con la evaluación inicial.

Tabla 18. Evolución de la fuerza y flexibilidad a lo largo de las evaluaciones.

Variable	Evaluación	GP ($n = 16$)	GS 25 ($n = 15$)	GS 200 ($n = 15$)
PMI (Kg)	Inicio	36,50±6,03	35,66±7,40	40,04±8,40
	Mes 1	36,28±5,90	38,75±8,04[#]	42,41±9,62[*]
	Mes 2	39,23±4,05	41,00±7,30^{ΩΩ}	43,60±11,07^Ω
	Desadaptación	39,63±5,54	39,45±8,16^Ω	41,00±8,56
PMD (Kg)	Inicio	38,28±6,64	37,00±8,00	40,75±8,07
	Mes 1	39,15±7,67	40,83±9,00	44,83±12,00
	Mes 2	42,75±6,37^{Ω#}	41,75±8,30^Ω	45,25±11,40^Ω
	Desadaptación	43,00±7,31^{Ωμ}	40,95±10,04	44,12±8,67^Ω
FTI (Kg)	Inicio	120,71±30,01	132,95±29,82	125,41±41,50
	Mes 1	135,56±31,32[#]	141,62±31,79	141,16±35,31^{##}
	Mes 2	134,93±29,02^Ω	149,83±32,60^{ΩΩ#}	146,70±35,65^{ΩΩ}
	Desadaptación	140,15±25,81^Ω	141,60±24,51	143,46±32,44
FPT (Kg)	Inicio	110,87±31,32	118,08±21,60	117,27±28,67
	Mes 1	122,75±22,70[#]	120,50±26,90	124,16±26,04
	Mes 2	118,34±22,06	129,00±23,57^{Ω#}	126,30±28,80^Ω
	Desadaptación	127,40±19,41^Ω	123,83±25,12	123,33±25,23
FA (cm)	Inicio	45,23±6,35	47,29±6,24	48,33±6,70
	Mes 1	45,03±8,00	49,41±6,50	51,60±5,45^{#^}
	Mes 2	45,28±7,11	48,00±5,64	51,63±6,43[^]
	Desadaptación	44,34±6,63	49,04±6,55	50,91±5,43^{Ω^}
FP (cm)	Inicio	4,34±8,80	1,37±9,71	2,16±6,73
	Mes 1	5,00±9,43	0,04±9,80	2,62±7,37
	Mes 2	5,53±9,01	-0,25±9,00	5,10±5,72
	Desadaptación	4,84±9,53	-0,37±9,93	2,37±7,80

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; PMI: fuerza de presión manual izquierda; PMD: fuerza de presión manual derecha; FTI: fuerza isométrica máxima del tren inferior; FPT: fuerza isométrica máxima de los músculos posteriores del tronco; FA: flexibilidad anterior; FP: flexibilidad posterior.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. [#] $p < 0,05$ diferencias con respecto a la evaluación previa; ^μ $p < 0,05$ desadaptación vs, mes 1; ^Ω $p < 0,05$ desadaptación o mes 2 vs, basal; ^{ΩΩ} $p < 0,01$ desadaptación o mes 2 vs, basal
Test de U Mann Whitney: diferencias entre grupos ^{*} $p < 0,05$ diferencias entre GP vs, GS 200 o G 25; [^] $p < 0,05$ diferencias entre GS 25 y GS 200.

En cuanto a la estadística intergrupala, se detectaron diferencias significativas entre el GP y el GS 200 en los valores de la PMI durante el mes 1. También, se apreciaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el GS 200 y el GS 25 en los niveles de FA durante el mes 1, el mes 2 y la desadaptación.

Con respecto a la fuerza muscular, en el presente trabajo se han apreciado importantes incrementos de la fuerza isométrica máxima y de prensión manual en los grupos suplementados con TC. Sin embargo, estos aumentos también se han verificado en el GP, lo cual resulta llamativo. Este hecho probablemente se deba a los efectos del aprendizaje motor del gesto técnico evaluado. En este aspecto, se ha evidenciado que el aprendizaje motor se asocia con adaptaciones fisiológicas dentro de la corteza motora primaria que contribuyen a una ejecución más eficiente de los movimientos aprendidos, produciendo una mejora del patrón de reclutamiento muscular, lo que puede desencadenar un aumento medible de los niveles de fuerza muscular (Carroll y cols., 2001).

El efecto del aprendizaje motor ha podido influir de la misma forma en los tres grupos estudiados. Sin embargo, los incrementos de la fuerza muscular registrados en los grupos suplementados con TC han alcanzado significancias estadísticas y magnitudes mayores, partiendo desde un nivel de fuerza inicial similar en comparación con el GP. Estos hechos podrían indicar que la suplementación con TC ha contribuido a aumentar la fuerza muscular de los participantes que la habían ingerido.

Muy pocos estudios han evaluado el posible efecto de la suplementación con microalgas sobre la fuerza muscular. Sandhu y cols. (2010) observaron en individuos varones sanos que la suplementación durante 8 semanas con *Spirulina* es efectiva para aumentar la fuerza muscular isométrica máxima (Sandhu y cols., 2010). Definitivamente, aunque pueda parecer extraño, existe un gran vacío científico relacionado con la investigación de las microalgas en el ámbito de la fuerza muscular.

Desde una perspectiva fisiológica, la fuerza muscular debe considerarse como un concepto integral. En este aspecto, toda producción de fuerza muscular conlleva la generación de una contracción muscular que implica la compleja interrelación de múltiples componentes nerviosos, estructurales y metabólicos (Bartolomé, 2021). Por lo tanto, todo factor que modifique o altere alguno de estos componentes podría influir en los niveles producidos de fuerza muscular.

El posible entorno neuroendocrinológico generado por la suplementación con TC posee ciertas características que han podido contribuir intensamente a los aumentos de la fuerza muscular, observados en esta investigación. El microambiente anabólico creado por los incrementos de la TES y el IGF-1 podría influir positivamente sobre los distintos componentes básicos que condicionan la contracción muscular. Por ello, es importante

considerar la posible modificación de estos componentes para analizar los resultados obtenidos.

En primer lugar, el componente nervioso constituye la base de la contracción muscular voluntaria (Hall, 2020). Esta contracción representa el efecto final de un impulso nervioso generado en la corteza motora primaria que, a través de las vías piramidales descendentes, ha conseguido alcanzar las motoneuronas alfa en las astas anteriores de la médula espinal. Una vez en las motoneuronas alfa, el impulso viaja hasta la placa motora, que constituye el nexo entre el sistema nervioso y el tejido muscular esquelético, desencadenando una despolarización que conlleva la aparición de la contracción muscular (Wilmore y Costill, 2015). Por lo tanto, todo elemento que influya en cualquier parte del recorrido del impulso nervioso podría influir en la producción de la fuerza muscular (Carroll y cols., 2001).

En consonancia con lo anterior, la TES posee numerosas funciones sobre el tejido nervioso, gracias a la presencia de receptores androgénicos en las células gliales y en las neuronas (McLeod y cols., 2020; Mhaouty-Kodja, 2018; Pike y cols., 2008). Los andrógenos producen un amplio abanico de efectos neuroprotectores y neuroterapéuticos (Fargo y cols., 2009). En este sentido, se ha demostrado que la TES ejerce funciones neuroprotectoras combatiendo el estrés oxidativo neural y protegiendo el tejido nervioso de la muerte celular (Ahlbom y cols., 2001; Pike y cols., 2008). Además, la TES posee importantes funciones neurotróficas pues acelera la regeneración axonal de las neuronas centrales y de las motoneuronas (Byers y cols., 2012). De manera similar, se ha evidenciado que los andrógenos poseen la capacidad de inducir mecanismos que estimulan la proliferación dendrítica así como los procesos de mielinización axonales, optimizando la transmisión del impulso nervioso (Bielecki y cols., 2016; Fargo y Sengelaub, 2007). Esto ha sido corroborado gracias a trabajos en los que el tratamiento con TES mejoraba la función motora de pacientes con lesiones medulares (Clark y cols., 2008). Además, según los mismos autores, estos pacientes aumentaron la fuerza muscular debido a los efectos neuroregenerativos de la TES (Clark y cols., 2008).

Por otra parte, el IGF-1 se considera como uno de los factores neurotróficos más potentes que existen (Rabinovsky, 2004; Tonkin y cols., 2015). El IGF-1 se encuentra presente en las neuronas del sistema nervioso periférico y actúa como un factor neurotrófico de las motoneuronas, las neuronas sensoriales y las neuronas simpáticas (Feldman y cols., 1997; Fernyhough y cols., 1993). Estos efectos se encuentran

respaldados por estudios que demuestran que bajas concentraciones del IGF-1 reducen la proliferación nerviosa (Streppel y cols., 2002). Durante el proceso de regeneración nerviosa, el IGF-1 puede secretarse a partir de diversas fuentes como las células de Schwann, los monocitos, el músculo esquelético, los capilares y el hígado (Cheng y cols., 1996; Rabinovsky, 2004; Tonkin y cols., 2015). La función neurotrófica del IGF-1 ha sido asociada especialmente a su capacidad de inducir la activación de la vía PI3K/akt en las células nerviosas (Laurino y cols., 2005). Además, cabe destacar que el IGF-1 sistémico posee la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica a través de un sistema de transporte saturable, pudiendo realizar sus efectos neurotróficos y neuroprotectores en cualquier parte del sistema nervioso (Pan y Kastin, 2000).

Como ya se ha mencionado, el IGF-1 constituye un factor neurotrófico importante para el desarrollo de las motoneuronas. De acuerdo con esto, se ha demostrado que el tratamiento con IGF-1 mejora la reinervación muscular y contrarresta la muerte de motoneuronas después de la axotomía del nervio ciático en animales (Vergani y cols., 1998). Es muy interesante que el IGF-1 también esté involucrado en la proliferación y en la diferenciación de las células de Schwann como parte de sus múltiples acciones sobre la regeneración nerviosa (Ogata y cols., 2006). En relación con lo anterior, en modelos *in vitro* se ha demostrado que el IGF-1 estimula la mielinización de los axones periféricos a través de la estimulación de la proliferación, la movilización y la diferenciación de las células de Schwann (Santos y Douglas, 2021; Stewart y cols., 1996). Además, el IGF-1 puede promover indirectamente la regeneración nerviosa activando los procesos de secreción de diversos factores solubles neurotróficos en las células de Schwann (Kosalko y cols., 2022). Por ello, los efectos del IGF-1 sobre las células de Schwann promueven los procesos de neurotransmisión nerviosa, la cual se encuentra altamente implicada en la generación de fuerza muscular.

Los test que midieron la fuerza muscular en el presente trabajo, desde un punto de vista fisiológico, consistían en generar la mayor contracción muscular posible durante unos pocos segundos. Así, los factores nerviosos de la contracción muscular adquieren una gran relevancia durante el desarrollo de estas evaluaciones, debido a la naturaleza fisiológica que las caracteriza (Cometti, 2007). En este aspecto, el reclutamiento de las unidades motoras, la frecuencia de los impulsos nerviosos, la conducción de los potenciales de acción, la coordinación inter e intra muscular y la sincronización de las unidades motoras representan variables nerviosas cruciales que determinan los niveles

máximos de fuerza muscular alcanzados por los participantes en esta investigación (Chicharro y López, 2006; Cometti, 2007; Wilmore y Costill, 2015).

Por lo tanto, los incrementos sostenidos de las concentraciones de TES e IGF-1 verificados en los grupos suplementados con TC podrían inducir distintos efectos neurotróficos, neurotransmisores y neuroregeneradores que regulen positivamente los factores nerviosos que condicionan la intensidad de la contracción muscular. Este hecho podría fundamentar una buena parte de los incrementos de la fuerza muscular que se han observado en el presente trabajo de tesis doctoral.

En segundo lugar, el componente estructural constituye otro de los elementos cruciales para generar fuerza muscular (Chicharro y López, 2006; Cometti, 2007; Wilmore y Costill, 2015). Las diferentes partes histológicas que componen el miocito poseen distintas funciones a la hora de generar tensión muscular. De este modo, tanto los elementos contráctiles como los elásticos contribuyen a la producción de fuerza muscular (Cometti, 2007; Wilmore y Costill, 2015; Platonov, 1995). Desde el punto de vista de los elementos contráctiles, el proceso de crecimiento muscular se desarrolla tanto por un incremento de las miofibrillas musculares como por la ampliación de sus matrices extracelulares (Schoenfeld, 2010). Ha sido establecido que uno de los mecanismos más importantes que permiten el crecimiento del tamaño miofilamentoso es el incremento de la concentración de actina y de miosina sarcoméricas, a través de la inducción de los procesos celulares que promueven la síntesis de proteínas intramusculares (Schoenfeld, 2016; Chicharro y López, 2006). El incremento notable de los elementos contráctiles musculares conduce al aumento medible de la fuerza muscular. De este modo, ha sido ampliamente revisado que el incremento del área de sección transversal muscular se correlaciona fuertemente con los niveles de fuerza muscular (Schoenfeld, 2010).

En esta investigación solo los grupos suplementados obtuvieron aumentos del porcentaje de la masa muscular, así como incrementos en los perímetros musculares del tren superior e inferior, a la vez que obtuvieron disminuciones del porcentaje graso y de los pliegues subcutáneos. Consecuentemente, es muy probable que, debido a las potentes funciones anabólicas de la TES y del IGF-1, los participantes que consumieron el suplemento incrementaran el área transversal de ciertos grupos musculares fundamentales para el correcto desempeño físico en los test que valoraban la fuerza muscular en la presente investigación. Dadas las elevadas correlaciones positivas entre la sección

transversal muscular y la fuerza muscular, este hecho podría explicar una parte de los aumentos de la fuerza observados en los dos grupos suplementados.

El componente metabólico es el tercer elemento que contribuye a la generación de fuerza muscular. En este aspecto, el abastecimiento energético del miocito juega un papel primordial en su mantenimiento homeostático y en la producción de la contracción muscular (Hall, 2020). La moneda energética del miocito constituye el ATP independientemente de la vía metabólica utilizada para su obtención (Lehninger y cols., 2000). De este modo, según las demandas y las condiciones fisiológicas del miocito, el ATP puede obtenerse predominantemente a través de rutas aeróbicas o anaeróbicas, pero siempre bajo la ley fisiológica del continuum energético, es decir, los metabolismos energéticos se acoplan para la obtención energética prevaleciendo más unos que otros en función de las demandas fisiológicas (Wilmore y Costill, 2015; Skinner y McLellan, 1980).

Se puede deducir que los metabolismos involucrados en la obtención energética, durante las pruebas de evaluación de la fuerza muscular en esta investigación, son mayormente anaeróbicos con una alta participación de los sistemas fosfágenos (ATP/fosfocreatina) debido a las condiciones metodológicas de estas valoraciones (Chicharro y López, 2006).

Durante los primeros segundos de los ejercicios de alta intensidad, la fosfocreatina (Pcr) sirve como reserva de fosfato de alta energía para amortiguar la hidrólisis del ATP intracelular (Wilmore y Costill, 2015). En consonancia con lo anterior, existen evidencias de que el IGF-1 mejora la tasa de resíntesis de la Pcr, optimizando sus reservas intramusculares a través de mecanismos moleculares que aún no han sido dilucidados con precisión (Hamarnah y cols., 2015; Makimura y cols., 2014). No obstante, todo apunta a que el IGF-1 podría elevar la actividad de las enzimas encargadas de la biosíntesis de Pcr (Hamarnah y cols., 2015; Makimura y cols., 2014). Este hecho podría suponer un aumento de la biodisponibilidad de la Pcr intramuscular, lo cual contribuye a generar contracciones musculares más potentes durante esfuerzos cortos y máximos (Chicharro y López, 2006). Consecuentemente, parte de los aumentos de la fuerza muscular observados podrían tener su base fisiológica en el papel que el IGF-1 posee sobre el metabolismo energético debido a los incrementos fuertemente significativos ($p < 0,01$) de las concentraciones del IGF-1 en los grupos que consumieron TC.

Otros de los hallazgos observados en este trabajo son los incrementos ($p < 0,05$) de la flexibilidad anterior en el GS 200. Igualmente, en el GS 25 se apreciaron tendencias incrementales de la FA, aunque en este grupo no se alcanzó la significancia estadística ($p < 0,05$). En cambio, en el GP los niveles de FA se mantuvieron constantes. Esta situación podría indicar que la suplementación con TC posee algunos efectos sobre los niveles de flexibilidad.

La flexibilidad es una capacidad física dependiente tanto de la elasticidad de las fibras musculares como del rango de movimiento articular (Platonov, 1995). Existen numerosas pruebas que pueden evaluar esta capacidad física, pero en el presente trabajo se optó por valorarla a través de su forma activa. En este sentido, la flexibilidad activa constituye la amplitud máxima del rango articular que puede conseguir un individuo mediante la distensión y la contracción voluntaria de su musculatura (Gleim y McHugh, 2012).

Por lo tanto, los niveles de la fuerza muscular agonista en el movimiento de estiramiento activo se pueden relacionar con los valores finales de flexibilidad activa alcanzados (Júnior y cols., 2011). De este modo, durante una prueba de flexibilidad activa máxima, un incremento de la fuerza muscular agonista puede favorecer, a través de ciertos mecanismos neurales, la distensión de la musculatura antagonista y la amplitud del rango articular, lo que puede conllevar un aumento de los niveles de flexibilidad (Júnior y cols., 2011; Santos y cols., 2010).

En relación con lo anterior y teniendo en cuenta el gesto técnico de la prueba que evaluaba la FA en este trabajo (consultar el subapartado 2.2.2.7. de métodos), los incrementos de la FA registrados en los grupos suplementados con TC podrían asociarse con los aumentos de la fuerza muscular observados en los grupos musculares posteriores del torso de estos participantes. En cambio, no se verificaron diferencias en los valores de la FP en ninguno de los grupos del estudio, lo cual podría deberse a las diferencias de ejecución técnica entre ambas pruebas de flexibilidad. Probablemente, en la prueba de FP haya influido más sobre el resultado final la restricción del componente elástico posterior que los niveles de fuerza generados en la musculatura agonista durante el movimiento. En relación con esto, es posible que, dadas las altas prevalencias de isquiotibiales acortados en la población, algunos participantes padecieran este problema lo que pudo influir en los resultados obtenidos (da Silva y Gómez-Conesa, 2008). En definitiva, estos hechos ponen de manifiesto que, posiblemente, debido a ciertos componentes bioactivos y al ambiente neuroendocrinológico generado por la ingesta de TC se hayan favorecido

de forma más específica los elementos contráctiles del músculo esquelético en comparación con los elásticos.

Teniendo en cuenta todos los hallazgos registrados en este apartado, se puede afirmar que es probable que el consumo de TC posea efectos ergogénicos sobre la producción de la fuerza muscular, pues los individuos que consumieron el suplemento mejoraron significativamente los niveles de fuerza isométrica máxima y de prensión manual sin la necesidad de entrenar, alcanzando mayores significancias estadísticas ($p < 0,01$), en comparación con los participantes que no se suplementaron. Actualmente, la búsqueda de los métodos que garanticen aumentar la fuerza muscular es continuamente perseguida en numerosas modalidades deportivas. Por ello, esta microalga podría cumplir un papel importante en las estrategias nutricionales orientadas a maximizar las ganancias musculares y de fuerza muscular durante la temporada deportiva en un futuro no muy lejano.

3.3.3 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* SOBRE LOS PARÁMETROS ERGOESPIROMÉTRICOS.

En este último apartado se analizan los resultados obtenidos en la prueba ergoespirométrica máxima. Para optimizar la información y el análisis de los datos, la prueba ergoespirométrica se ha fraccionado en las siguientes partes teóricas:

- Registro de los datos basales de los participantes.
- Análisis del umbral aeróbico.
- Análisis del umbral anaeróbico.
- Evaluación de los valores ergoespirométricos máximos alcanzados
- Registro de los datos correspondientes a la recuperación durante los 3 minutos tras finalizar la prueba.

Todos estos datos se han organizado en diferentes tablas.

Cabe destacar que muchos de los cambios fisiológicos observados en este apartado final son la consecuencia de las modificaciones fisiológicas analizadas en las anteriores secciones de este trabajo. Por ello, el análisis de este apartado se comprende más fácilmente tras entender integralmente las fluctuaciones biológicas que han tenido los participantes, ya descritas en las anteriores secciones, tras el consumo de TC.

En la tabla 19 se recopilan los datos pertenecientes a la evolución de las variables ergoespirométricas basales durante el transcurso de la investigación.

Como puede apreciarse, en el GP no existieron cambios. Por otra parte, en el GS 25 se observaron disminuciones significativas ($p < 0,05$) del CR durante el mes 1, en

Tabla 19. Evolución de los valores ergoespirométricos basales durante las evaluaciones del periodo experimental.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
VO ₂ (ml/min)	Inicio	0,36±0,84	0,39±0,12	0,44±0,16
	Mes 1	0,35±0,76	0,45±0,18	0,33±0,13
	Mes 2	0,37±0,98	0,36±0,16	0,38±0,10
	Desadaptación	0,34±0,11	0,35±0,07	0,35±0,10
VO _{2/Kg} (ml/min/kg)	Inicio	5,01±1,04	5,35±1,42	6,02±1,71
	Mes 1	4,98±1,02	6,27±2,32	5,69±2,00
	Mes 2	5,22±1,12	4,94±1,93	5,35±1,20
	Desadaptación	5,00±1,51	4,82±0,94	5,01±1,40
VCO ₂ (l/min)	Inicio	0,36±1,04	0,37±0,26	0,40±0,14
	Mes 1	0,34±0,08	0,38±1,37	0,31±0,15
	Mes 2	0,36±1,00	0,33±0,15	0,35±0,10
	Desadaptación	0,33±0,11	0,30±0,06	0,33±1,00
CR	Inicio	0,98±0,12	0,94±0,06	0,92±0,16
	Mes 1	0,98±0,11	0,84±0,16 ^{#*}	0,93±0,20
	Mes 2	0,97±0,06	0,88±0,09	0,89±0,08
	Desadaptación	0,97±0,11	0,87±0,06 ^Ω	0,93±0,07
FC (ppm)	Inicio	86,77±19,10	101,42±27,21	93,92±21,00
	Mes 1	85,00±18,03	89,48±34,43	87,08±10,10
	Mes 2	79,80±18,51	81,67±15,42 ^Ω	84,58±12,52 ^Ω
	Desadaptación	85,73±13,04	83,58±13,40 ^Ω	83,42±15,90
VE (l/min)	Inicio	14,27±3,92	13,33±3,60	15,58±6,38
	Mes 1	13,62±4,62	15,16±5,84	12,92±6,17
	Mes 2	12,90±3,02	12,25±4,94	12,92±3,28
	Desadaptación	12,93±4,06	11,25±2,34	12,50±4,03

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; VO₂: consumo de oxígeno absoluto; VO_{2/kg}: consumo de oxígeno relativo; VCO₂: volumen de dióxido de carbono absoluto; CR: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca media; VE: ventilación máxima pulmonar.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. # $p < 0,05$ diferencias con respecto a la evaluación previa; ^Ω $p < 0,05$ desadaptación o mes 2 vs, basal.

Test de U Mann Whitney: diferencias entre grupos * $p < 0,05$ diferencias entre GP vs, GS 200 o G 25.

comparación con la evaluación inicial. Además, en este mismo grupo se apreciaron disminuciones significativas ($p < 0,05$) de la FC durante el mes 2 y la desadaptación, con respecto al inicio. Sin embargo, en el GS 200 solo se verificaron decrementos ($p < 0,05$) de la FC durante el mes 2, en comparación con los valores basales. En cuanto a la estadística inter-grupal, se detectó una diferencia significativa ($p < 0,05$) de los valores de CR durante el mes 1 entre el GS 25 y el GP.

Llama poderosamente la atención que los grupos suplementados disminuyeron la FC progresivamente hasta alcanzar la significancia ($p < 0,05$) en el segundo mes. Además, es interesante observar que únicamente en el GS 25 se produjo una reducción ($p < 0,05$) del CR. Estos hallazgos son relevantes pues los participantes suplementados consiguieron cambios fisiológicos que les permitían comenzar la prueba de esfuerzo con niveles de eficiencia metabólica mayores. Los individuos que ingirieron la TC obtuvieron cambios típicos del entrenamiento orientado a la resistencia sin haber entrenado, lo cual vuelve a poner de manifiesto el posible potencial ergogénico de la TC.

Como ya se ha descrito en anteriores apartados, es muy frecuente la presencia de péptidos bioactivos anti-hipertensivos en microalgas eucarióticas (Koyande y cols., 2019). Estas moléculas inhiben a la ECA lo que implica una disminución en las concentraciones de angiotensina II (Masi y cols., 2019). La angiotensina II posee la capacidad de modular directamente la contractibilidad y el metabolismo del corazón debido a la existencia de receptores de esta hormona en el tejido miocárdico (Hall, 2020). Esto favorece el ionotropismo y el cronotropismo cardíaco, propiciando un aumento de la frecuencia y la contractibilidad cardíaca (Hall, 2020). Además, la angiotensina II también posee receptores en las células del sistema nervioso autónomo, favoreciendo el incremento del tono simpático que, inevitablemente, aumenta la actividad cardíaca (Chicharro y López, 2006; Hall, 2020).

Sin embargo, ha sido ampliamente demostrado que todos estos efectos pueden anularse a través de la administración de fármacos inhibidores de la ECA (Messerli y cols., 2018). Según los anteriores fenómenos fisiológicos y los resultados relacionados con las presiones arteriales obtenidos en el presente trabajo, es altamente probable que la TC contenga péptidos bioactivos inhibidores de la ECA. Al ejercer sus acciones, estas moléculas podrían disminuir el tono simpático y la actividad de los sistemas excito-conductores cardíacos provocando la reducción de la FC basal registrada en los grupos suplementados.

Además, algunos autores sostienen que estos efectos pueden permanecer en el tiempo debido a mecanismos actualmente desconocidos (Barkia y cols., 2018). Esta situación era claramente visible durante el período de desadaptación, en el que los participantes no consumían TC y paradójicamente sus valores de FC se mantuvieron reducidos en comparación con la evaluación inicial.

Por otra parte, son altamente llamativas las disminuciones ($p < 0,05$) del CR observadas en el GS 25, que incluso alcanzó valores significativamente más bajos ($p < 0,05$) en comparación con el GP. Sin embargo, en el GS 200 no se dieron estos cambios, aunque cabe señalar que la tendencia de los valores del CR fue ligeramente descendente.

En este aspecto, en el ámbito de la fisiología del ejercicio es ampliamente conocido que los valores del CR se correlacionan directamente con la predominancia de los sustratos energéticos oxidados, asociándose los CR más bajos con la mayor utilización de los ácidos grasos para obtener energía (Wilmore y Costill, 2015). Por lo tanto, cualquier factor que haya influido en los mecanismos relacionados con la movilización de grasas, las reservas de triglicéridos intramusculares y las enzimas implicadas en la oxidación lipídica podría desencadenar los cambios del CR registrados en los grupos suplementados.

Con relación a lo anterior, las mitocondrias son orgánulos esenciales que gobiernan la fosforilación oxidativa para obtener energía en forma de ATP (Hall, 2020). Estos orgánulos forman una red intracelular altamente dinámica y entre otras muchas funciones llevan a cabo la beta-oxidación de los ácidos grasos (Chicharro y López, 2006). Por otra parte, la homeostasis mitocondrial se conserva gracias a la delicada coordinación entre la biogénesis mitocondrial y la eliminación de mitocondrias mediante procesos de mitofagia (Popov y Simionescu, 2020).

Las mitocondrias poseen una particularidad que las distingue de cualquier otro orgánulo celular, es decir, contienen su propio ADN, denominado ADN mitocondrial (ADNm) (Hall, 2020). Esto les otorga la capacidad de sintetizar sus propias proteínas, necesarias para la división y el funcionamiento mitocondrial (Popov y Simionescu, 2020). De acuerdo con esto, la biogénesis mitocondrial es un término que hace referencia tanto al cambio de la composición bioquímica mitocondrial como al aumento del contenido mitocondrial por gramo de un tejido (Hood y cols., 2006). A pesar de que en este proceso se hallan numerosas moléculas involucradas, ha sido establecido que el PGC1 α es el principal regulador de la biogénesis mitocondrial (Popov y Simionescu, 2020).

En este contexto, se ha evidenciado que el ejercicio y ciertos suplementos dietéticos pueden inducir la biogénesis mitocondrial a través de múltiples eventos moleculares, entre los que se incluyen los procesos de transcripción, traducción y replicación del

ADNm (Popov y Simionescu, 2020; Stancliffe, 2012). Muchos autores han demostrado que la contracción muscular induce un incremento del ratio ADP/ATP y de las concentraciones de calcio en la célula muscular, lo cual desencadena una serie de cascadas de señalización celular que acaban en la activación del PGC1 α , promoviendo todos los procesos de biogénesis mitocondrial (Irrcher y cols., 2003; Popov y Simionescu, 2020). De este modo, se ha evidenciado que el entrenamiento orientado a la resistencia optimiza todos los mecanismos beta-oxidativos e incrementa el contenido mitocondrial del músculo esquelético (Holloszy y Coyle, 1984).

En relación con lo anterior, se ha comprobado en varios estudios en animales e *in vitro* que las microalgas pueden inducir los procesos de biogénesis mitocondrial a través de la activación de SIRT-1 que, a su vez, estimula el PGC1 α (Eseberri y cols., 2019). Además, la AMPK es otra de las moléculas que regulan positivamente la transcripción y la actividad molecular del PGC1 α (Marcinko y Steinberg, 2014). En este aspecto, diversos autores han evidenciado que ciertas especies de microalgas como la *Spirulina* pueden favorecer la activación de la AMPK en ratas (Seo y cols., 2018). Sin embargo, los mecanismos moleculares utilizados por las microalgas para activar estas vías se desconocen todavía.

Igualmente, se ha demostrado que el IGF-1 también puede optimizar los procesos de biogénesis mitocondrial en el músculo esquelético (Guan y cols., 2022a; Poudel y cols., 2020). Recientemente se ha verificado que la administración del IGF-1 posee efectos beneficiosos sobre la restauración de las funciones mitocondriales y sobre el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la disfunción mitocondrial (Sádaba y cols., 2016). Las acciones del IGF-1 sobre las mitocondrias pueden ser muy variadas pero deben resaltarse las dos siguientes: la activación del PGC1- α y la regulación de los procesos bioenergéticos mitocondriales (Bhardwaj y cols., 2021; Guan y cols., 2022a).

En primer lugar, el mecanismo subyacente al aumento de la expresión del PGC1- α promovido por la señalización del IGF-1 se ha atribuido a la existencia del complejo transcripcional yin-yang 1 (YY1)/PGC1 α en las células musculares esqueléticas (Guan y cols., 2022a). En este sentido, la función transcripcional de YY1/PGC1 α se encuentra directamente regulada por la actividad de la mTOR (Cunningham y cols., 2007). Como ya se ha descrito en anteriores apartados, el IGF-1 es un activador clásico aguas arriba de la mTOR, por lo que esta hormona puede inducir la biogénesis mitocondrial a través de la señalización mTOR/PGC1 α (Cunningham y cols., 2007; Guan y cols., 2022b).

En segundo lugar, el IGF-1 puede regular los procesos bioenergéticos mitocondriales (Bhardwaj y cols., 2021). Con relación a esta idea, se ha demostrado que las proteínas FoxO merman los procesos bioenergéticos mitocondriales a través de una represión de los genes que codifican para el complejo I de la cadena respiratoria (Bhardwaj y cols., 2021). Ya ha sido descrito en este trabajo que el IGF-1 a través de la vía PI3K/akt/FoxO puede actuar sobre los FoxO inhibiendo sus funciones (Yoshida y Delafontaine, 2020). De este modo, un estudio actual realizado por Bhardwaj y cols. (2021) ha comprobado que el IGF-1 inactiva a los FoxO regulando positivamente las subunidades centrales del complejo I mitocondrial y la respiración celular (Bhardwaj y cols., 2021). Por lo tanto, el IGF-1, muy posiblemente, posea la capacidad de mejorar la producción del ATP a través de una optimización de la cadena respiratoria mitocondrial.

Por otra parte, la EPO es una hormona que también posee un papel importante en la biogénesis mitocondrial (Qin y cols., 2014). Como ya se ha explicado en otros apartados, la presencia de receptores de la EPO (EPO-R) en algunos tejidos extra-medulares otorga a esta hormona la capacidad de ejercer funciones más allá de las hematopoyéticas (Brines y Cerami, 2006). Generalmente, se cree que los mecanismos subyacentes a los efectos de la administración de rhEPO en el ejercicio son el resultado del aumento de la serie roja hematológica, bajo el sólido fundamento de que este procedimiento incrementa el suministro de oxígeno a los tejidos aeróbicos (Birzniece, 2015). Aunque esto puede explicar en gran parte los beneficios de la EPO, los efectos extrahematopoyéticos también pueden contribuir en el incremento del rendimiento físico (Lundby y Olsen, 2011).

El EPO-R se expresa en el músculo esquelético y se ha demostrado que su activación conduce a la estimulación de reguladores clave de la biogénesis mitocondrial incluyendo la AMPK y el PGC1 α (Nijholt y cols., 2021). Además, se ha verificado que los efectos de la EPO sobre el músculo esquelético y las mitocondrias preceden a cualquier cambio en la serie roja hematológica (Nijholt y cols., 2021). En este sentido, Plengue y cols. (2012) demostraron que el tratamiento prolongado con rhEPO en un modelo *in vitro* de fibras musculares esqueléticas obtenidas de atletas aumentaba todos los procesos de respiración mitocondrial, favoreciendo la producción energética de estos orgánulos (Plenge y cols., 2012). Esto también se encuentra en consonancia con el trabajo realizado por Wang y cols. (2013) que evidenciaron en ratones que la sobreexpresión de EPO activaba el PGC1 α , aumentando la proporción de fibras musculares oxidativas (de tipo I) (Wang y cols., 2013).

En concordancia con todas estas investigaciones, Gunga y cols. (2003) estudiaron en individuos con sobrepeso los efectos de una estancia en altura de aproximadamente 1700 metros sobre el nivel del mar durante 3 semanas (Gunga y cols., 2003). Tras la intervención, se elevaron las concentraciones de EPO plasmática sin observarse cambios en la hemoglobina, pero se verificaron disminuciones significativas de la grasa corporal. Estos hallazgos también se encuentran respaldados por Caillaud y cols. (2015) que administraron a individuos varones sanos 50 U/kg de EPO tres veces por semana durante 4 semanas. Los resultados mostraron que la intervención mejoró significativamente la oxidación de grasas durante el ejercicio independientemente de sus efectos sobre los parámetros hematológicos, evidenciándose disminuciones significativas del CR (Caillaud y cols., 2015). Curiosamente, estos hechos coinciden con nuestras observaciones, pues verificamos incrementos de la EPO en los grupos suplementados, que no experimentaron cambios en la hemoglobina, pero si disminuciones en el porcentaje graso y en el CR. Además, estas reducciones significativas ($p < 0,05$) del CR basal podrían indicar que la posible movilización lipídica promovida por la suplementación con TC puede ser utilizada para aumentar la oxidación de los lípidos.

También, los anteriores hallazgos sugieren que el EPO-R tisular puede ser un objetivo farmacológico específico. Esta idea ha impulsado diversas investigaciones con el objetivo de sintetizar compuestos derivados de la EPO que puedan unirse exclusivamente al EPO-R extra-hematopoyético (Collino y cols., 2015). De este modo, es probable que exista la posibilidad de explotar los beneficios de la rhEPO en el rendimiento físico sin que se den los conocidos efectos sobre el hematocrito y la serie roja que esta hormona posee.

En el presente trabajo, destacaron los incrementos ($p < 0,05$) del IGF-1 y de la EPO en los participantes suplementados. Según los efectos que dichas hormonas poseen sobre la bioenergética y la biogénesis mitocondrial, anteriormente mencionados, podría deducirse su contribución en los decrementos registrados del CR basal, especialmente en el GS 25, debido a la posible optimización de los procesos beta-oxidativos. Además, cabe destacar que la posible mejora de la cadena respiratoria mitocondrial también podría favorecer el metabolismo energético glucolítico-aeróbico, pues este mecanismo también es utilizado globalmente por los electrones, originados en el ciclo de Krebs, que pueden proceder indistintamente de la oxidación de moléculas de glucosa, de proteínas y de lípidos.

Por otra parte, como ya se ha detallado en el apartado relacionado con la composición corporal, se ha comprobado que las microalgas tienen efectos notables sobre el

metabolismo lipídico (Eseberri y cols., 2019). Ciertas especies de microalgas poseen la capacidad de inhibir las rutas adipogénicas reduciendo la expresión de PPAR γ y C/EBP α lo que conlleva una disminución de los procesos lipogénicos de almacenamiento (Sugimoto y cols., 2018). Igualmente, se ha observado en animales que el consumo de microalgas incrementa la actividad de enzimas y moléculas involucradas en la lipólisis del tejido adiposo blanco y del músculo esquelético, como la lipasa sensible a hormonas y la vía molecular AMPK (Seo y cols., 2018b). De acuerdo con estos hallazgos, el consumo de microalgas disminuye los procesos lipogénicos, lo cual puede conducir a un incremento de lípidos plasmáticos biodisponibles para ser oxidados a nivel mitocondrial (Hall, 2020).

Como es lógico, deben existir ciertas condiciones para oxidar los lípidos que circulan por el torrente sistémico, como el correcto funcionamiento de los sistemas que transportan los lípidos hacia el interior celular y mitocondrial. En este sentido, los ácidos grasos del torrente circulatorio suelen unirse a la albúmina y mediante un transporte saturable por difusión se introducen en los tejidos que los requieran (Hall, 2020). En cambio, los triglicéridos deben ser hidrolizados previamente por la enzima endotelial lipoproteína lipasa (LPL) que los convierte en ácidos grasos y glicerol, permitiéndoles el paso al interior celular (Merkel y cols., 2002). Los ácidos grasos de hasta 20 átomos de C, una vez que se encuentran en el citoplasma celular y son activados, deben transportarse al interior de las mitocondrias donde se oxidan para la obtención del ATP (Lehninger y cols., 2000). Además, debido a la gran impermeabilidad de las membranas mitocondriales se requiere un transportador específico que introduzca los ácidos grasos en la mitocondria, el denominado carnitina. (Lehninger y cols., 2000)

Así, existen varios puntos críticos en la movilización de los ácidos grasos hasta el interior mitocondrial, entre los que destacan los procesos de transporte desde el capilar hasta el citoplasma celular y la función de las carnitinas. Consecuentemente, cualquier factor asociado al consumo de microalgas que influya sobre estas variables podría regular el transporte de los ácidos grasos positiva o negativamente (Lehninger y cols., 2000; Hall, 2020). En este aspecto, existen dos componentes bioactivos en las microalgas que podrían influir en el transporte lipídico, los AGPI n-3 y los carotenoides.

Se ha demostrado que los AGPI n-3 pueden reducir en los seres humanos los triglicéridos sanguíneos al aumentar la actividad enzimática de la lipoproteína lipasa endotelial (Weber y Raederstorff, 2000). Según algunos trabajos, parece ser que tanto el

EPA como el DHA poseen idénticas capacidades para promover la hidrólisis de los triglicéridos mediante la activación de la LPL (Klingel y cols., 2019). En relación con estos hallazgos, Khan y cols. (2002) mostraron que la suplementación con aceite de pescado incrementó la expresión de los genes que codificaban para la LPL, así como su actividad enzimática (Khan y cols., 2002). Por ello, es probable que el aumento de la actividad de la LPL inducida por los EPA y los DHA provenga del aumento de la expresión del gen que codifica para esta enzima.

Por otra parte, existen estudios que han demostrado que la suplementación con carotenoides también puede disminuir las concentraciones sanguíneas de triglicéridos (Kiokias y Gordon, 2003). En este aspecto, Lee y cols. (2011) observaron que la astaxantina induce el aumento de los niveles del ARNm de la carnitina palmitoil transferasa 1 (Lee y cols., 2011). Esta enzima se ubica en la membrana mitocondrial externa y cataliza la transferencia de una molécula de acil-coA a la carnitina permitiéndole atravesar la membrana mitocondrial interna y alcanzar la matriz donde libera el ácido graso para su beta-oxidación (Lehninger y cols., 2000). Por lo tanto, un incremento de la expresión y de la actividad de la carnitina palmitoil transferasa 1 favorece la oxidación de los ácidos grasos y la obtención del ATP (Longo y cols., 2006).

Consecuentemente, la rica composición de la TC en AGPI n-3 y en carotenoides ha podido optimizar los sistemas celulares de transporte lipídicos contribuyendo, en cierta manera, a disminuir ($p < 0,05$) los valores del CR en el GS 25. Esto concordaría con las tendencias negativas de las concentraciones de triglicéridos observadas en los grupos suplementados durante los dos meses de consumo de TC. Por lo tanto, considerando los cambios hormonales observados y la composición bioquímica de la TC es probable que la suplementación con dicha microalga pueda promover los procesos de transporte lipídico, así como los mecanismos de oxidación mitocondriales, desencadenando las disminuciones del CR observadas.

La tabla 20 ilustra la evolución de los valores ergoespirométricos máximos durante las evaluaciones del periodo experimental. En el GP solo se observaron decrementos significativos ($p < 0,05$) del VCO_2 durante la desadaptación, con respecto a los valores del mes 2 e iniciales. En cuanto al GS 25 se verificaron reducciones significativas ($p < 0,05$) del VO_2 y del $VO_{2/kg}$ durante la desadaptación, en comparación con los niveles del mes 2 e iniciales. También, en el GS 25 se apreciaron decrementos ($p < 0,05$) del VE y el VCO_2 durante la desadaptación, en comparación con el mes 1. Por otra parte, en el GS 200 se

detectaron disminuciones significativas ($p < 0,05$) del tiempo durante la desadaptación, con respecto al mes 1.

Como puede apreciarse, durante el periodo de suplementación no se produjeron cambios interesantes en los valores ergoespirométricos máximos. Sin embargo, es muy llamativo que tras suprimir la ingesta de TC los valores de consumo de oxígeno máximo relativos y absolutos cayeron fuertemente ($p < 0,01$) en el GS 25.

Esta misma tendencia también puede apreciarse en el GS 200, incluso observándose disminuciones significativas ($p < 0,05$) en el tiempo máximo de la prueba. Aunque se desconocen los motivos exactos por los que esto ha podido ocurrir, es plausible que ciertos sistemas celulares se hayan desadaptado para funcionar sin la contribución del aporte suplementario de TC tras un período prolongado de 60 días consumiéndola. De este modo, no se detectaron cambios significativos durante el período de suplementación, pero, tras suprimir bruscamente la ingesta de TC, ciertos bioejes de retroalimentación celular han podido verse afectados, lo cual se refleja en los valores finales relacionados con el consumo de oxígeno en el GS 25 y con el del tiempo en el GS 200, que llegaron a ser incluso más bajos que los registrados en la evaluación inicial. Esto pone de manifiesto que probablemente la suplementación con TC haya contribuido a mantener los valores máximos ergoespirométricos durante el período de suplementación.

Tabla 20. Evolución de los valores ergoespirométricos máximos durante las evaluaciones del período experimental.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Tiempo (min)	Inicio	15,27±2,10	14,72±2,82	15,42±2,61
	Mes 1	15,20±2,06	14,24±2,35	16,07±3,55
	Mes 2	15,09±2,28	14,65±3,28	15,39±3,90
	Desadaptación	14,70±2,53	14,00±2,63	15,27±3,45^μ
Velocidad (km/h)	Inicio	14,87±1,02	14,70±1,40	15,17±1,52
	Mes 1	14,93±1,18	14,58±1,56	15,08±1,56
	Mes 2	14,81±1,22	14,91±1,90	14,89±2,17
	Desadaptación	14,56±1,09	14,25±1,36	14,83±1,64
VO ₂ (ml/min)	Inicio	3,35±0,41	3,22±0,50	3,35±0,51
	Mes 1	3,37±0,40	3,31±0,52	3,35±0,50
	Mes 2	3,33±0,35	3,25±0,47	3,31±0,50
	Desadaptación	3,23±0,37	3,03±0,50^{μμ}	3,30±0,51
VO _{2/kg} (ml/min/kg)	Inicio	46,29±4,10	44,41±4,45	46,63±3,41
	Mes 1	46,98±3,74	45,82±5,55	46,85±4,07
	Mes 2	46,34±3,67	45,41±5,80	46,32±5,14
	Desadaptación	45,17±3,60	42,48±4,96^{μμ#}	45,52±4,80
VCO ₂ (l/min)	Inicio	3,90±0,50	3,73±0,64	3,78±0,60
	Mes 1	3,84±0,41	3,80±0,57	3,79±0,51
	Mes 2	3,82±0,48	3,70±0,53	3,80±0,50
	Desadaptación	3,66±0,46^{Ω#}	3,54±0,60^μ	3,77±0,47
CR	Inicio	1,16±0,05	1,16±0,06	1,12±0,07
	Mes 1	1,14±0,06	1,15±0,06	1,13±0,05
	Mes 2	1,14±0,06	1,14±0,05	1,16±0,10
	Desadaptación	1,14±0,05	1,15±0,06	1,16±0,06
FC(ppm)	Inicio	187,31±19,82	196,70±6,70	185,25±28,80
	Mes 1	191,12±9,70	197,41±5,35	188,08±12,21
	Mes 2	185,31±17,80	195,33±7,24	193,92±12,50
	Desadaptación	189,62±7,56	194,41±8,75	194,42±14,43
VE (l/min)	Inicio	129,62±21,08	122,83±19,80	125,17±32,80
	Mes 1	126,70±20,35	129,08±18,47	129,08±14,31
	Mes 2	125,70±17,70	124,50±17,31	120,16±30,77
	Desadaptación	121,93±19,65	115,83±23,26^μ	130,00±3,80

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; VO₂: consumo de oxígeno absoluto;

VO_{2/kg}: consumo de oxígeno relativo; VCO₂: volumen de dióxido de carbono absoluto; CR: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca; VE: ventilación máxima pulmonar.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. # p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal; μ p < 0,05 desadaptación vs, mes 1.

Los resultados del presente trabajo no concuerdan con los obtenidos por Toro y cols. (2020) que verificaron que tras el consumo de TC durante 30 días en deportistas aumentaban los valores de VO_{2 max} (Toro y cols., 2020). Estos hechos se asociaron al aumento de concentraciones de la hemoglobina, situación que tampoco ha ocurrido en la presente investigación. Igualmente, nuestros datos no coinciden con los aportados por

otros autores, que observaron que la suplementación con *Spirulina* y *Chlorella* incrementaba los valores ergoespirométricos máximos.

Muy pocas microalgas han sido investigadas en el contexto de la ergoespirometría. En este aspecto, la *Spirulina* ha sido la más estudiada con diferencia. Sin embargo, existe un gran vacío experimental en otras muchas especies y géneros. Gurney y cols. (2020) informaron que la suplementación con *Spirulina* en humanos con una dosis de 6 g/día durante una semana mejoraba el VO_2 máx. en una prueba ergoespirométrica incremental de brazos (Gurney y Spendiff, 2020). Igualmente, Zempo-Miyaki (2017) demostraron que la administración de un suplemento de *Chlorella vulgaris* durante 4 semanas aumentaba el VO_2 máx. en individuos con un estado deficitario de micronutrientes (Zempo-Miyaki y cols., 2017)

Siguiendo las mismas pautas que los autores anteriores, Umemoto y cols. (2014) verificaron que la suplementación con *Chlorella vulgaris* podía aumentar el consumo máximo de oxígeno en individuos jóvenes sanos que no tenían carencias nutricionales (Umemoto y Otsuki, 2014). Por otra parte, Hernandez-Lepe y cols. (2018) comprobaron que la administración de 4,5 g/día de *Spirulina máxima* durante seis semanas mejoraba los parámetros de composición corporal y la aptitud cardiorrespiratoria durante una prueba ergoespirométrica incremental de máxima intensidad (Hernández-Lepe y cols., 2018).

En las tablas 21 y 22 se recogen los cambios ergoespirométricos relacionados con el umbral aeróbico y el umbral anaeróbico respiratorio.

Con respecto al umbral aeróbico (tabla 21), en el GP únicamente se apreciaron disminuciones significativas del VCO_2 durante la desadaptación, en comparación con el mes 2 y con el mes 1. Con relación al GS 25, se observaron incrementos significativos del tiempo durante el mes 1, el mes 2 y la desadaptación, con respecto a los valores basales. Además hay que destacar los fuertes incrementos ($p < 0,01$) que se registraron en el GS 25 de la velocidad durante el mes 1, en comparación con los valores basales. También, en esta misma variable se detectaron incrementos significativos ($p < 0,05$) durante la desadaptación, con respecto a la evaluación inicial. Igualmente, los participantes del GS 25 aumentaron ($p < 0,05$) el VO_2 y el VCO_2 durante el mes 1, con respecto a la primera evaluación. Del mismo modo, en el GS 25 se observaron incrementos significativos ($p < 0,05$) de la FC durante el mes 1, en comparación con la

valoración inicial. Asimismo, los individuos del GS 25 incrementaron sus valores del VE durante el mes 1 y la desadaptación, con respecto a los valores iniciales. Por último, en el GS 200 se verificaron disminuciones ($p < 0,05$) del tiempo durante el mes 2, en comparación con el mes 1 y aumentos ($p < 0,05$) de la FC durante el mes 1, con respecto a los valores iniciales. En lo relacionado con la estadística inter-grupal, se detectaron diferencias significativas ($p < 0,05$) en los valores de la FC durante el mes 1 entre el GS 25 y el GS 200.

Con relación al umbral anaeróbico (tabla 22), como puede apreciarse, en el GP se observaron disminuciones ($p < 0,05$) de la velocidad durante el mes 2, en comparación con la evaluación inicial y en la desadaptación, con respecto al mes 1.

En el GS 25 se verificaron incrementos ($p < 0,05$) del tiempo durante el mes 1, con respecto a la evaluación inicial. Igualmente, en el GS 25 se registraron aumentos de la velocidad durante el mes 1, en comparación con la valoración inicial. Así, en esta misma variable se detectaron disminuciones ($p < 0,05$) durante la desadaptación, con respecto al mes 1. En el GS 25, hay que destacar el fuerte incremento ($p < 0,05$) del VO_2 durante el mes 1, en comparación con la evaluación inicial. Sin embargo, posteriormente los valores del VO_2 disminuyeron ($p < 0,05$) durante la desadaptación, con respecto al mes 1. Del mismo modo, los participantes del GS 25 aumentaron ($p < 0,05$) los valores del $VO_{2/kg}$ y del VCO_2 durante el mes 1, en comparación con la evaluación inicial. Más tarde, los niveles de dichas variables disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) durante la desadaptación, con respecto al mes 1. Además, en el GS 25 se identificaron incrementos ($p < 0,05$) del VE durante el mes 1, en comparación con la valoración inicial. Finalmente, en el GS 200, se observaron aumentos significativos ($p < 0,05$) del tiempo y la velocidad durante el mes 1, con respecto a la evaluación inicial.

Desde la perspectiva del rendimiento físico-deportivo, es muy interesante apreciar que se producen cambios en los dos umbrales ventilatorios de los individuos que se suplementaron con TC. De forma general, el GP mantuvo sus valores ergoespirométricos invariables. Sin embargo, los grupos que consumieron TC incrementaron el tiempo y la velocidad a la que alcanzaban dichos umbrales, lo cual también concuerda con las modificaciones de los valores del VO_2 , del VCO_2 y de la FC que tienden a aumentar debido al mayor gasto energético y a los mayores requerimientos fisiológicos que supone elevar la intensidad de los umbrales ventilatorios.

Tabla 21. Evolución de los valores ergoespirométricos correspondientes con el umbral aeróbico durante las evaluaciones del período experimental.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Tiempo (min)	Inicio	6,31±2,83	4,62±1,41	6,29±2,80
	Mes 1	6,72±1,82	6,66±1,85 #	7,62±2,77
	Mes 2	6,33±1,66	6,16±2,19 ^Ω	6,58±3,09 #
	Desadaptación	6,25±2,20	6,75±2,27 ^Ω	7,09±2,84
Velocidad (Km/h)	Inicio	10,50±1,31	9,83±0,57	10,50±1,57
	Mes 1	10,81±0,98	10,83±0,93 ###	11,25±1,21
	Mes 2	10,47±0,74	10,41±1,08	10,75±1,54
	Desadaptación	10,56±0,96	10,75±1,14 ^Ω	11,00±1,55
VO ₂ (ml/min)	Inicio	2,44±0,40	2,19±0,42	2,41±0,36
	Mes 1	2,53±0,23	2,54±0,40 #	2,57±0,43
	Mes 2	2,46±0,27	2,44±0,34	2,47±0,42
	Desadaptación	2,31±0,23	2,43±0,42	2,44±0,38
VO _{2/Kg} (ml/min/Kg)	Inicio	33,75±4,67	30,56±3,30	33,63±4,01
	Mes 1	34,24±3,63	35,31±5,34 #	35,90±4,09
	Mes 2	34,12±3,35	34,12±4,61	34,55±5,06
	Desadaptación	33,75±2,94	33,37±4,10	34,04±3,87
VCO ₂ (ml/min)	Inicio	2,44±0,48	2,13±0,45	2,31±0,44
	Mes 1	2,47±0,22	2,47±0,33 #	2,53±0,42
	Mes 2	2,50±0,30	2,37±0,35	2,47±0,47
	Desadaptación	2,30±0,27 ^{μ#}	2,40±0,45	2,45±0,35
CR	Inicio	0,99±0,05	0,97±0,07	0,95±0,08
	Mes 1	0,98±0,06	0,97±0,05	0,98±0,04
	Mes 2	1,01±0,04	0,97±0,05	1,00±0,04
	Desadaptación	0,99±0,06	1,00±0,06	1,00±0,04
FC (ppm)	Inicio	159,12±13,28	161,16±9,27	162,41±13,83
	Mes 1	162,36±7,62	169,60±9,44 ^{#*}	167,92±12,97 #
	Mes 2	157,47±10,74	164,66±10,57	161,41±11,85
	Desadaptación	157,81±11,00	162,16±11,78	161,27±14,57
VE (l/min)	Inicio	70,75±17,17	62,58±11,92	70,08±12,65
	Mes 1	73,56±10,17	72,91±11,80 #	74,91±14,73
	Mes 2	72,47±10,92	69,00±10,01	73,25±14,76
	Desadaptación	65,75±9,44	72,25±16,30 ^Ω	74,45±14,90

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; VO₂: consumo de oxígeno absoluto; VO_{2/kg}: consumo de oxígeno relativo; VCO₂: volumen de dióxido de carbono absoluto; CR: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca; VE: ventilación máxima pulmonar.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. # p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; ^Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal.

Tabla 22. Evolución de los valores ergoespirométricos correspondientes con el umbral anaeróbico durante las evaluaciones del período experimental.

Variable	Evaluación	GP (n = 16)	GS 25 (n = 15)	GS 200 (n = 15)
Tiempo (min)	Inicio	11,56±2,90	10,16±2,11	11,62±2,57
	Mes 1	12,00±1,97	11,41±2,15[#]	12,87±3,13[#]
	Mes 2	11,20±1,94	11,08±2,35	11,75±3,53
	Desadaptación	11,65±2,58	11,13±2,41	12,18±3,41
Velocidad (Km/h)	Inicio	13,25±1,29	12,50±1,17	13,16±1,34
	Mes 1	13,56±0,89	13,16±1,03[#]	13,75±1,42[#]
	Mes 2	13,00±1,00[#]	12,83±1,11	13,33±1,80
	Desadaptación	13,00±1,15^μ	12,82±1,25^μ	13,45±1,75
VO ₂ (l/min)	Inicio	3,00±0,44	2,87±0,47	3,04±0,45
	Mes 1	3,10±0,36	3,06±0,47^{##}	3,16±0,47
	Mes 2	3,00±0,34	2,92±0,38	2,97±0,50
	Desadaptación	2,98±0,31	2,93±0,46^μ	2,96±0,49
VO ₂ Kg (ml/min/kg)	Inicio	41,31±4,32	40,21±4,48	42,33±3,00
	Mes 1	42,34±3,83	42,41±5,53[#]	44,09±4,06
	Mes 2	41,66±3,50	40,98±4,75	41,62±5,54
	Desadaptación	40,53±3,54	39,84±4,41^μ	41,34±4,44
VCO ₂ (l/min)	Inicio	3,23±0,53	3,06±0,50	3,23±0,50
	Mes 1	3,27±0,37	3,31±0,51[#]	3,41±0,52
	Mes 2	3,23±0,40	3,12±0,36	3,25±0,50
	Desadaptación	3,08±0,40	3,18±0,52^μ	3,25±0,50
CR	Inicio	1,08±0,06	1,06±0,04	1,06±0,07
	Mes 1	1,06±0,05	1,08±0,05	1,08±0,05
	Mes 2	1,07±0,06	1,06±0,05	1,09±0,06
	Desadaptación	1,06±0,06	1,08±0,06	1,10±0,05
FC (ppm)	Inicio	180,18±9,70	186,33±5,43	184,41±11,60
	Mes 1	182,50±8,03	186,63±6,37	180,41±11,61
	Mes 2	179,00±11,40	184,00±9,00	183,91±11,68
	Desadaptación	170,75±10,30	185,09±10,12	184,18±16,20
VE (l/min)	Inicio	98,90±17,35	91,70±13,07	100,66±15,51
	Mes 1	101,37±16,26	103,25±16,72[#]	108,33±17,89
	Mes 2	98,66±15,26	96,50±8,29	102,50±17,04
	Desadaptación	95,62±14,12	100,09±19,46	104,36±19,73

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; VO₂: consumo de oxígeno absoluto; VO₂kg: consumo de oxígeno relativo; VCO₂: volumen de dióxido de carbono absoluto; CR: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca media; VE: ventilación máxima pulmonar.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. [#] p < 0,05 diferencias con respecto a la evaluación previa; ^Ω p < 0,05 desadaptación o mes 2 vs, basal; ^μ p < 0,05 desadaptación vs, mes 1.

Curiosamente, los mayores cambios ergoespirométricos se registraron en el GS 25 observándose fuertes incrementos (p<0,01) de la velocidad a la que alcanzaron el umbral aeróbico (UA) tras el primer mes de suplementación. No obstante, en el GS 200 durante el mes 2 se verificó una inesperada disminución (p<0,05) del tiempo en el que alcanzaron el UA en comparación con el mes anterior en el que, precisamente, los valores de dicha

variable se incrementaron sin alcanzar la significancia estadística. Por otra parte, en relación con los valores del UAN, se observaron tendencias similares en ambos grupos suplementados, aumentando tanto el tiempo como la velocidad a la que alcanzaron el UAN. Por el contrario, cabe destacar que solo existieron cambios estadísticamente significativos ($p < 0,05$) en el GS 25 en lo que respecta a los valores de VO_2 , VCO_2 y $VO_{2/kg}$ del UAN.

Por otra parte, como ya se ha explicado, se produjeron interesantes cambios en los umbrales ventilatorios de los grupos suplementados. Tomando como referencia el modelo metabólico trifásico de Skinner (Skinner y McLellan, 1980), se puede interpretar que los participantes suplementados obtuvieron mejoras evidentes durante la fase 1 o aeróbica y en el transcurso de la fase 2 o de transición aeróbica-anaeróbica. En este aspecto, los cambios fueron particularmente notables durante la fase 1, pues tanto el GS 25 como el GS 200 incrementaron la intensidad a la que alcanzaron el UA durante el periodo de suplementación, lo que se refleja claramente en el aumento del tiempo, la FC y la velocidad durante el UA. En cambio, en el UAN no se verificaron modificaciones cardiovasculares, pero sí se observaron aumentos ($p < 0,05$) en los dos grupos suplementados tanto del tiempo como de la velocidad en este umbral, es decir, consiguieron alcanzar el UAN más tarde y a mayor velocidad manteniendo la misma FC.

Esta situación posee fuertes implicaciones en el campo del rendimiento físico-deportivo pues los participantes suplementados consiguieron prolongar a nivel cardiovascular y ergoespirométrico las fases fisiológicas de esfuerzo predominantemente aeróbicas, así como aumentar la velocidad del UA y del UAN, lo que se traduce en un aumento de la eficiencia energética (Chicharro y López, 2006). Esto puede apreciarse muy claramente comparando las frecuencias cardíacas y las velocidades. De este modo, en el GS 25 durante el UAN en el mes 1 para una misma FC (tomando como referencia la inicial) se incrementa significativamente ($p < 0,05$) la velocidad a la que los participantes pueden realizar el esfuerzo sin haber sobrepasado todavía el UAN. Algo similar ocurre con el UA en los grupos suplementados, de manera que durante el mes 1 las intensidades que inicialmente representaban el UA, tras un mes de suplementación, se transformaron en la zona cardiovascular correspondiente con la fase 1. Estos acontecimientos fisiológicos constituyen adaptaciones biológicas clásicas del entrenamiento de resistencia y estas han sido logradas sin realizar ningún tipo de ejercicio

físico específico. Por lo tanto, estos fenómenos vuelven a evidenciar las posibles propiedades ergogénicas que posee la TC.

Las bases fisiológicas en las que se sustentan estos hallazgos pueden explicarse desde varias perspectivas, una de ellas está más relacionada con la eficiencia de los metabolismos energéticos y la otra se encuentra mayormente vinculada con la economía de carrera.

Con relación a la eficiencia de los metabolismos energéticos, como ya se ha detallado en el análisis de los resultados basales, es posible que la suplementación con TC haya optimizado los procesos bioenergéticos de las mitocondrias. En este sentido, los decrementos del CR registrados, especialmente en el GS 25, pueden indicar que los participantes suplementados comenzaron la primera fase de la prueba con una mayor capacidad mitocondrial para oxidar los lípidos (Wilmore y Costill, 2015). Este acontecimiento permitiría reducir la intervención de los metabolismos glucolíticos durante la primera fase de esfuerzo físico (Skinner y McLellan, 1980). Como consecuencia de esto, se ahorraría más glucógeno muscular que podría ser utilizado en posteriores esfuerzos de mayor intensidad y, además, se retrasaría la acumulación del lactato, lo que conlleva la postergación de la respuesta ventilatoria debido a la estabilización del pH, implicando, finalmente, el aplazamiento temporal del UA observado en este trabajo.

De acuerdo con esta línea de pensamiento, se debe recordar que las posibles adaptaciones mitocondriales mediadas por el entorno hormonal, generado por TC, pueden optimizar los complejos de la cadena respiratoria mitocondrial beneficiando los metabolismos energéticos de todas las biomoléculas, incluidos los glúcidos (Bhardwaj y cols., 2021; Lehninger y cols., 2000). Por lo tanto, durante la fase de transición aeróbica-anaeróbica las posibles optimizaciones mitocondriales podrían promover en mayor medida la oxidación aeróbica de la glucosa, así como un mayor aprovechamiento de los ácidos grasos basado tanto en el continuum energético como en las posibles mejoras del metabolismo lipídico generadas por el consumo de TC (Guan y cols., 2022a; Wilmore y Costill, 2015; Poudel y cols., 2020; Skinner y McLellan, 1980). Estos sucesos podrían disminuir la contribución de los metabolismos anaeróbicos durante más tiempo y podrían postergar el aumento de las concentraciones de lactato, por lo que se ahorraría glucógeno muscular, provocando el retraso temporal del UAN que se ha observado en los grupos suplementados.

Una de las enzimas limitantes para la producción de energía aeróbica a través de la glucosa es la piruvato deshidrogenasa (PDH) (Chicharro y López, 2006). La PDH es una enzima intramitocondrial que modula la oxidación aeróbica de la glucosa convirtiendo el piruvato en acetil-CoA (Lehninger y cols., 2000). Durante las condiciones anaeróbicas, la actividad de la PDH se inhibe significativamente conduciendo a la transformación citoplasmática del piruvato en lactato (Wilmore y Costill, 2015). Por ello, los activadores alostéricos de la PDH permiten la corrección de la acidosis láctica debido a su capacidad para acelerar la oxidación del piruvato en el interior de la mitocondria (Wang y cols., 2018). En este aspecto, existen evidencias de que, a través de mecanismos desconocidos, tanto la TES como los AGPI pueden funcionar como inductores de la PDH y favorecer la oxidación de los carbohidratos en la matriz mitocondrial (Costello y Franklin, 1993; Kang y cols., 2020). Consecuentemente, debido a los incrementos significativos registrados de la TES y a las elevadas concentraciones de AGPI en la TC, es biológicamente plausible la inducción del aumento funcional de la PDH que, a su vez, ha podido contribuir positivamente a la oxidación aeróbica de la glucosa durante la prueba ergoespirométrica incremental, especialmente durante la fase de transición aeróbica-anaeróbica, durante el UAN y durante los momentos posteriores al UAN, incluida la recuperación tras el esfuerzo.

Por otra parte, la economía de carrera constituye un factor de gran relevancia que debe considerarse para analizar correctamente las modificaciones ergoespirométricas (Beattie y cols., 2014b). La economía en el contexto deportivo se puede definir como la cantidad de energía metabólica consumida a una determinada intensidad y generalmente se mide a través de la velocidad o la potencia (Beattie y cols., 2014b; Chicharro y López, 2006). El movimiento económico es multifactorial y está condicionado por el historial de entrenamiento, la antropometría, la biomecánica y la fisiología del deportista (Fletcher y cols., 2009). Desde una perspectiva fisiológica, se puede afirmar que, durante una carrera, un atleta económico consume menos energía metabólica en intensidades submáximas pudiendo ahorrar reservas vitales de glucógeno para las fases significativas de la competencia, lo cual permite a los corredores aguantar ataques, subir pendientes acusadas o correr a máxima velocidad en los minutos finales (Foster y cols, 2007).

La importancia que posee la fuerza muscular en la resistencia desafía la percepción histórica de que las mejoras en el rendimiento físico de resistencia se logran únicamente a través del entrenamiento aeróbico. Sin embargo, las investigaciones actuales indican

que la fuerza muscular específica y la potencia anaeróbica también pueden ser factores esenciales para aumentar el rendimiento de los corredores de resistencia (Aagaard y cols., 2011).

De este modo, el entrenamiento de la fuerza muscular específica puede conllevar adaptaciones neuromusculares positivas para el rendimiento físico de resistencia. Estas adaptaciones pueden ser de naturaleza contráctil, metabólica y neural (Yamamoto y cols., 2008). En primer lugar, con relación a las adaptaciones contráctiles y metabólicas se pueden destacar los incrementos de la actividad de las enzimas anaeróbicas, los aumentos del glucógeno intramuscular, así como las mejoras bioquímicas de la contracción muscular (Chicharro y López, 2006; Wilmore y Costill, 2015; Yamamoto y cols., 2008). En segundo lugar, con respecto a las adaptaciones neurales pueden incluirse las mejoras del reclutamiento y sincronización de las unidades motoras, la optimización de la frecuencia y conducción de impulsos nerviosos y el perfeccionamiento del ciclo estiramiento-acortamiento (Cometti, 2007; Bartolomé, 2021).

La combinación de todas estas beneficiosas adaptaciones podrían incrementar la economía de carrera (Beattie y cols., 2014b). En este sentido, las mejoras de la economía de carrera pueden suponer aumentos de la velocidad en una distancia dada o incrementos de la distancia recorrida a una velocidad dada debido a la disminución de las necesidades del consumo energético (Saunders y cols., 2004; Spurrs y cols., 2003). De acuerdo con esto, la fuerza muscular puede mejorar la economía de carrera a través de los siguientes mecanismos: induciendo cambios mecánicos ventajosos para la técnica de carrera, mejorando la eficiencia biomecánica, la coordinación muscular y los patrones de reclutamiento motor, así como reduciendo la intensidad relativa del esfuerzo físico (Hoff y cols., 2002; Sale, 1988). Por lo tanto, la optimización de la economía de carrera puede ser el resultado de una mejora en la eficiencia neuromuscular y biomecánica que permite reducir el consumo de oxígeno a una velocidad dada (Yamamoto y cols., 2008).

Con relación a estos fundamentos fisiológicos, en el presente trabajo se observaron incrementos altamente significativos ($p < 0,01$) de la FTI tanto en el GS 25 como en el GS 200, muy posiblemente vinculados al potente anabolismo inducido por los aumentos de la TES ($p < 0,05$) y del IGF-1 ($p < 0,01$) registrados en los grupos suplementados. Por lo tanto, de acuerdo con la literatura científica consultada, los efectos a nivel neuromuscular que poseen estas hormonas, descritos a lo largo de los apartados de este trabajo, han podido desencadenar una mejora de la economía de carrera a través de un incremento de

la fuerza muscular en los participantes suplementados con TC. Este hecho contribuiría a explicar una buena parte de los cambios ergoespirométricos obtenidos, pues las mejoras en la economía de carrera podrían favorecer tanto la disminución del consumo energético a una intensidad dada como la conservación del glucógeno muscular. Estos hechos concuerdan con los cambios ergoespirométricos observados durante los umbrales ventilatorios en esta investigación.

En definitiva, las posibles adaptaciones relacionadas con la bioenergética mitocondrial, así como las asociadas con la economía de carrera han podido confluír ejerciendo un efecto fisiológico sumatorio que ha promovido los cambios ergoespirométricos observados en los participantes que se suplementaron con TC.

Curiosamente, la mayoría de cambios ergoespirométricos estadísticamente significativos tuvieron lugar durante el primer mes, lo cual no coincidió con los incrementos ($p < 0,01$) del IGF-1 ni con los de TES ($p < 0,05$). Sin embargo, es destacable que los aumentos de dichas hormonas comenzaron a registrarse desde el mes 1, manteniendo una tendencia ascendente durante todo el período de suplementación en comparación con las concentraciones iniciales. Por ello, los efectos biológicos de estas hormonas han podido aparecer desde el primer mes de suplementación. Más tarde, aunque las concentraciones del IGF-1 y de la TES siguieron aumentando o manteniéndose significativamente más altas ($p < 0,05$) no se asociaron con mayores cambios ergoespirométricos.

Probablemente, esto pueda deberse a algún fenómeno de tolerancia receptoral causado por los incrementos hormonales sostenidos en el tiempo y a la ingesta diaria de TC. Estos fenómenos de tolerancia consisten en la disminución progresiva y paulatina del efecto de una determinada sustancia a pesar de que se aplique la misma dosis (Koch y Höllt, 2008). Igualmente, podrían haber influido ciertos parámetros del ritmo circadiano e incluso la variación del momento de la ingesta de TC por parte de los participantes el día antes de la evaluación. De acuerdo con esto, sería interesante valorar en un futuro el tiempo que tardan en aparecer los cambios hematológicos y hormonales tras la ingesta aguda de TC, así como evaluar el momento en el que se alcanzan las mayores modificaciones de las distintas variables y la duración de estas fluctuaciones en el tiempo. Todo lo anterior podría aportar una información muy valiosa para interpretar de forma más precisa los resultados del presente trabajo.

Finalmente, en la tabla 23 se ilustran los cambios de las variables ergoespirométricas correspondientes con la recuperación de 3' tras la prueba de esfuerzo máxima. Como puede observarse, en el GS 25 y en el GS 200 solo se verificaron disminuciones significativas de la FC durante el mes 2, en comparación con la evaluación inicial.

Tras dos meses, resalta a la vista que los participantes suplementados disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) la FC tras los 3' de recuperación, pero el GP no obtuvo ningún cambio en esta variable.

Tabla 23. Evolución de los valores ergoespirométricos correspondientes con la recuperación de 3' tras la realización de la prueba de esfuerzo máxima.

Variable	Evaluación	GP ($n = 16$)	GS 25 ($n = 15$)	GS 200 ($n = 15$)
VO ₂ (l/min)	Inicio	0,67±0,14	0,68±0,12	0,68±0,12
	Mes 1	0,66±0,13	0,70±0,16	0,70±0,12
	Mes 2	0,68±0,13	0,71±0,14	0,65±0,15
	Desadaptación	0,64±0,13	0,67±0,13	0,60±0,14
VO _{2/kg} (ml/min/kg)	Inicio	9,22±1,65	9,63±1,63	9,48±1,44
	Mes 1	9,23±1,91	9,44±1,73	9,68±1,08
	Mes 2	9,40±1,86	9,90±1,46	9,28±2,17
	Desadaptación	9,26±1,94	9,26±1,26	8,58±2,40
VCO ₂ (l/min)	Inicio	0,88±0,17	0,84±0,30	0,90±0,24
	Mes 1	0,81±0,24	0,90±0,23	0,92±0,22
	Mes 2	0,90±0,22	0,90±0,18	0,82±0,24
	Desadaptación	0,69±0,21	0,92±0,22	0,82±0,24
CR	Inicio	1,32±0,10	1,29±0,07	1,30±0,15
	Mes 1	1,28±0,11	1,30±0,13	1,31±0,15
	Mes 2	1,32±0,15	1,30±0,06	1,25±0,19
	Desadaptación	1,27±0,10	1,30±0,10	1,33±0,12
FC (ppm)	Inicio	128,00±15,68	135,50±14,56	135,00±41,69
	Mes 1	126,31±14,70	131,10±12,31	133,16±20,04
	Mes 2	124,40±16,92	127,09±13,33^Ω	123,63±20,33^Ω
	Desadaptación	122,69±14,60	127,75±14,36	126,36±18,12
VE (l/min)	Inicio	35,18±8,41	34,25±7,41	36,58±10,05
	Mes 1	35,33±9,02	35,08±9,11	37,50±9,51
	Mes 2	35,46±8,95	35,36±8,13	33,90±11,33
	Desadaptación	35,38±8,00	35,33±8,87	32,41±9,80

GP: grupo placebo; GS 25: grupo 25 mg; GS 200: grupo 200 mg; VO₂: consumo de oxígeno absoluto; VO_{2/kg}: consumo de oxígeno relativo; VCO₂: volumen de dióxido de carbono absoluto; CR: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca media; VE: ventilación máxima pulmonar.

Test de Wilcoxon: diferencias intra grupales. ^Ω $p < 0,05$ desadaptación o mes 2 vs, basal.

Este acontecimiento concuerda con los resultados obtenidos de la frecuencia cardíaca media basal en el inicio de la prueba, es decir, el consumo de TC podría estar ligado con una disminución de los sistemas de excitación cardíaca en estado de reposo.

Estas adaptaciones son típicas del entrenamiento de resistencia pues generalmente se encuentra vinculado con una disminución de la frecuencia cardíaca media en reposo, lo cual ha sido establecido como un indicador del estado de forma física de los deportistas durante muchas décadas (Bompa, 2017; Platonov, 2001). Los participantes que se suplementaron no realizaron un plan de ejercicio físico y consiguieron respuestas de carácter bradicárdico incluso tras el esfuerzo extenuante. Estos hechos avalan que la TC podría promover los mecanismos autónomos de recuperación aguda tras el esfuerzo. Así, estos datos vuelven a revelar el potencial ergogénico de la TC.

Se han estudiado varios mecanismos para comprender los factores fisiológicos subyacentes a la bradicardia inducida por el entrenamiento de resistencia (Doyen y cols., 2019). Desde hace décadas, el sistema nervioso autónomo ha sido considerado como el principal modulador de estas adaptaciones (Jensen-Urstad y cols., 1997). En esta línea, la hipertonía vagal inducida por el entrenamiento ha sido propuesta como un mecanismo fisiológico causal (Boyett y cols., 2013). No obstante, se ha observado que, cuando la actividad del nervio vago se bloquea con atropina, los pacientes entrenados poseen una frecuencia cardíaca más baja en comparación con las personas sedentarias (Boyett y cols., 2013). Esto pone de manifiesto que existen más mecanismos fisiológicos que explican la bradicardia del deportista.

De acuerdo con lo anterior, estudios recientes han evidenciado que las bradicardias inducidas por los entrenamientos intensivos se deben especialmente a procesos de remodelación cardíaca que afectan de forma muy particular al nódulo sinusal, el principal marcapasos cardíaco biológico (Flannery y cols., 2021). De este modo, la bibliografía científica sugiere que pueden existir profundas modificaciones en el interior del propio nódulo sinusal (Doyen y cols., 2019). Estos cambios consisten en variaciones de los canales iónicos que permiten reducir la actividad intrínseca del nódulo sinusal y, como consecuencia, la frecuencia cardíaca media basal (Flannery y cols., 2021; Weiner y Baggish, 2012). Según estas evidencias, es bien conocido que los deportistas entrenados en resistencia consiguen recuperar más rápido el ritmo cardíaco basal tras un esfuerzo extenuante, en comparación con los individuos desentrenados (Borresen y Lambert, 2008).

Estos mecanismos bradicárdicos son inducidos a través del entrenamiento físico por lo que es probable que no coincidan con lo ocurrido en los participantes del presente trabajo. De esta manera, como se ha explicado en el comienzo de este apartado, una de

las razones que podrían explicar los cambios en la FC de los individuos suplementados es la posible presencia de biopéptidos antihipertensivos en la TC que debido a sus acciones inhibitorias sobre la ECA podrían disminuir las concentraciones de angiotensina II reduciendo el tono simpático, tanto al comienzo de la prueba ergoespirométrica como durante la recuperación tras el ejercicio extenuante (Suetsuna y Chen, 2001b).

Otro posible fundamento fisiológico que podría explicar los resultados obtenidos guarda relación con la producción de lactato. En este aspecto, los metabolorreceptores musculares son quimiorreceptores ubicados en el músculo esquelético que transmiten información al núcleo nervioso vasomotor del bulbo raquídeo sobre los cambios metabólicos que se generan en el entorno de las fibras musculares (Chicharro y López, 2006). Estos receptores solo se activan al llegar a ciertas intensidades del ejercicio donde comienzan a predominar los procesos catabólicos glucolíticos, captando las disminuciones del pH (Muhammad y cols., 2007). Cuando detectan la información del medio muscular, los metabolorreceptores se activan y actúan sobre el núcleo vasomotor del bulbo produciendo una respuesta nerviosa simpática que contribuye a desencadenar la taquicardia y los aumentos de la contractibilidad cardíaca, típicas de las altas intensidades de esfuerzo físico (Muhammad y cols., 2007).

Cabe destacar que todas las pruebas ergoespirométricas fueron de máxima intensidad, lo cual puede comprobarse observando que la totalidad de los participantes sobrepasaron el UAN hasta llegar a la extenuación. Por ello, los metabolorreceptores todavía podían permanecer activados durante los primeros minutos de la recuperación, promoviendo la respuesta simpática debido a que los niveles de lactato, probablemente, aún seguían siendo altos (Chicharro y López, 2006; Muhammad y cols., 2007). En consonancia con esto, las posibles mejoras de la actividad enzimática de la PDH promovidas por la TES y los AGPI, así como los posibles efectos de la TC sobre los procesos de biogénesis mitocondrial, podrían contribuir a la mayor oxidación del piruvato en la matriz mitocondrial, lo que se traduciría en una menor tasa de producción de lactato durante la recuperación. Esto podría favorecer la alcalinización del entorno muscular que aceleraría la recuperación del pulso basal a través de la desactivación de los metabolorreceptores musculares.

Consecuentemente, tanto los biopéptidos antihipertensivos como las mejoras de la oxidación del piruvato podrían explicar varias de las causas fisiológicas que han conducido a las reducciones de la FC observadas en los grupos suplementados durante la

recuperación tras el esfuerzo. Además, es posible que estos factores, en caso de existir simultáneamente, puedan actuar de forma sinérgica potenciando aún más la respuesta bradicárdica posterior a la extenuación física. Estas observaciones indicarían que los participantes que han consumido TC han obtenido una mayor recuperación interna ante un esfuerzo máximo, en comparación con los no suplementados.

Por otra parte, es destacable que los resultados concuerdan con los publicados anteriormente por nuestro equipo de investigación, en los que se muestra que los individuos futbolistas que se suplementaron con TC redujeron significativamente ($p < 0,05$) la FC durante la recuperación tras la prueba ergoespirométrica incremental, en comparación con los que no consumieron la microalga (Toro y cols., 2020). Este acontecimiento fisiológico refleja el potente efecto bradicárdico de la TC, pues los individuos eran futbolistas experimentados con adaptaciones cardíacas previas, es decir, esta situación indica que los posibles efectos cardiovasculares de la TC pueden añadirse a las adaptaciones conseguidas por el entrenamiento, suponiendo un interesante hallazgo para el mundo del rendimiento físico-deportivo.

Además, en el anterior trabajo no se produjeron cambios ergoespirométricos durante intensidades inferiores al UAN, pero si se observaron optimizaciones ($p < 0,05$) tanto de la FC durante el UAN como del VO_2 máx. Por el contrario, en la presente investigación se observaron cambios significativos ($p < 0,05$) en los dos umbrales ventilatorios. Según estos datos parecería lógico pensar que la TC ha podido ejercer mayores efectos biológicos durante la fase 1 y la fase 2 del esfuerzo incremental en los participantes desadaptados al entrenamiento de resistencia, pues poseen menores adaptaciones del metabolismo lipídico/glucolítico y mayores índices de reserva de adaptación fisiológica, en comparación con los individuos deportistas del primer trabajo realizado por nuestro grupo de investigación (Toro y cols., 2020; Verkhoshansky, 2000).

3.4 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON *TETRASELMIS CHUII* EN FUNCIÓN DE LAS DOSIS INGERIDAS.

A la vista de todos los resultados analizados en las anteriores secciones, es interpretable que la ingesta de TC ha sido más efectiva en el GS 25. En este sentido, se ha observado que, en multitud de variables, como la TES, las HDL, las plaquetas, los leucocitos, los monocitos, la PMI y el CR basal, el GS 25 ha presentado mayores cambios que el GS 200, es decir, los efectos de la TC no fueron dosis-dependientes. Aunque resulte

paradójico que el grupo que consumió menores dosis de suplemento haya obtenido mayores cambios fisiológicos en muchas de las variables estudiadas, la explicación de este hecho podría fundamentarse en los niveles de bioaccesibilidad del liofilizado de la TC.

Las microalgas del género *Tetraselmis* son conocidas en el mundo de la taxonomía por sus tecas, una cubierta celular derivada de la fusión de escamas primitivas y altamente estables debido a su composición en polisacáridos (Hori y cols., 1982). De este modo, se ha evidenciado que la pared celular de *Tetraselmis spp.* es extremadamente resistente a la hidrólisis enzimática (Kermanshahi-pour y cols., 2014). No obstante, parece ser más susceptible a los entornos ácidos, pues las imágenes microscópicas han demostrado que cuando se acidifica a pH 4 una solución de células de *Tetraselmis spp.* mediante ácido acético durante 40 horas, la pared celular de estas microalgas se consigue hidrolizar parcialmente (Kermanshahi-pour y cols., 2014). Curiosamente, el pH del estómago se sitúa entre valores de 3,5 y 4 durante los procesos digestivos, que, según lo anteriormente mencionado, representan valores de pH suficientemente ácidos como para hidrolizar la MEC de la TC (Kermanshahi-pour y cols., 2014; Hall, 2020). Sin embargo, el paso de la TC por el estómago durante la digestión es mucho más efímero en comparación con el tratamiento de acidificación experimental empleado por los diversos autores (Kermanshahi-pour y cols., 2014; Lehninger y cols., 2000).

Este hecho podría repercutir de varias maneras sobre los niveles de biodisponibilidad y de bioaccesibilidad de los componentes bioactivos de la TC cuando es ingerida oralmente. En primer lugar, podría existir una cierta hidrólisis de la pared celular de la TC durante su recorrido ácido en el estómago, lo que posiblemente facilitaría la liberación de los componentes bioactivos para ser digeridos y absorbidos en el intestino delgado. En segundo lugar, la teca es resistente a la acción hidrolítica de las enzimas humanas, pues estas no poseen mecanismos para hidrolizar ciertos polisacáridos vegetales, como la celulosa (Lehninger y cols., 2000). Esto repercute negativamente sobre la bioaccesibilidad de los componentes bioactivos de la TC y, paralelamente, conlleva una reducción de la absorción intestinal y biodisponibilidad de los mismos.

En relación con lo anterior, se deben considerar varios aspectos vinculados con la teca de la TC. Por una parte, podría proteger los componentes bioactivos de la acidez gástrica garantizando su biodisponibilidad una vez que se absorban en el intestino delgado, por otra, la composición bioquímica de la teca puede limitar notablemente la

liberación de los elementos bioactivos de la matriz alimentaria reduciendo sus niveles de absorción y biodisponibilidad. Como consecuencia de lo anterior, es plausible que la ausencia de efectos dosis-dependientes observada en el presente trabajo pueda deberse a la resistencia digestiva relacionada con la teca de la TC. En este aspecto, de acuerdo con nuestros resultados es probable que la dosis de 25 mg sea mejor asimilada por los participantes al contener proporcionalmente menores cantidades de polisacáridos no digeribles. No obstante, este hecho se encuentra vinculado con numerosas variables inter-individuales que deberían ser mejor estudiadas en un futuro.

Tras finalizar el análisis y la discusión de los resultados obtenidos en el presente trabajo, de manera general se podría afirmar que la suplementación con TC parece ser una estrategia nutricional muy interesante que contribuye a la mejora del rendimiento físico-deportivo y de la salud, pudiendo actuar como una valiosa ayuda ergogénica.

Como se ha podido comprobar a lo largo de este epígrafe, la suplementación con TC puede optimizar gran parte de los factores de rendimiento deportivo mencionados durante la introducción, incluyendo la fuerza, la velocidad y el UAN. Sin embargo, aún falta por establecer correctamente los momentos precisos de la ingesta y la dosis adecuada, pues en este trabajo los efectos no fueron dosis-dependientes.

Una de las mayores limitaciones de esta investigación ha sido la ausencia casi total de material bibliográfico que haya revisado anteriormente los efectos de la TC en humanos. Por lo tanto, es importante considerar que el análisis y la discusión de los datos de la presente investigación han tenido que fundamentarse en otras situaciones experimentales similares en las que se han utilizado otras especies y géneros de microalgas, así como en los efectos aislados que poseen los compuestos bioquímicos contenidos en la TC. De este modo, son necesarias más investigaciones futuras que puedan confirmar los efectos registrados en esta investigación y dilucidar con mayor precisión los interesantes mecanismos de acción de esta microalga en el organismo humano.

En definitiva, los resultados arrojados por la presente tesis doctoral son altamente originales y esperanzadores por lo que pueden contribuir en el avance del conocimiento científico, tanto en el contexto sanitario como en el de las ciencias del deporte.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONS

4. CONCLUSIONES.

A continuación, se exponen las conclusiones del presente trabajo de tesis doctoral vinculadas a los objetivos establecidos en el inicio de la investigación.

Con relación al primer objetivo, ligado con la evaluación de los efectos del programa de suplementación con TC durante 60 días sobre las variables bioquímicas, pueden contemplarse las siguientes conclusiones:

- El protocolo de suplementación con TC no indujo efectos tóxicos sobre los participantes.
- Se produjeron diferentes cambios en el perfil lipídico de los participantes en función de la dosis de TC suministrada. En este aspecto, la ingesta de 25 mg de TC provocó aumentos en las HDL y tendencias negativas en las concentraciones de las LDL. Sin embargo, una dosis de 200 mg produjo los efectos opuestos.
- Se apreciaron tendencias negativas no significativas ($p < 0,05$) de las concentraciones de triglicéridos en los grupos de participantes suplementados con TC.

Con respecto al segundo objetivo, relacionado con los efectos de la TC sobre las variables hematológicas, plaquetarias y hormonales, se pueden destacar las siguientes conclusiones:

- La suplementación con TC aumentó considerablemente las concentraciones de EPO, de IGF-1 y de TES en los participantes.
- El programa de suplementación con TC se asoció con una reducción general de los valores de la serie plaquetaria.
- La suplementación con TC indujo en los participantes incrementos de los valores de la serie blanca y no se apreciaron cambios relevantes en la serie roja.

De acuerdo con el tercer objetivo referente a los efectos de la TC sobre las variables de condición física, antropométricas y ergoespirométricas, se pueden señalar las siguientes conclusiones:

- La ingesta de TC provocó incrementos del porcentaje muscular y decrementos del porcentaje grasa.

- El programa de suplementación con TC indujo disminuciones de las presiones arteriales e incrementos considerables de la fuerza muscular isométrica máxima.
- La suplementación con TC se vinculó con reducciones de los valores basales de la FC y del CR, así como con disminuciones de la FC tras el esfuerzo extenuante.
- La ingesta de TC mejoró las condiciones fisiológicas-metabólicas de los dos umbrales ventilatorios

En relación al cuarto objetivo:

- Los cambios inducidos por la suplementación con TC no son dosis-dependientes pues no se observaron mejoras adicionales con la ingesta de 200 mg.

LIMITACIONES,
PROSPECTIVAS Y
APLICACIONES PRÁCTICAS

*LIMITATIONS, PROSPECTIVES AND
PRACTICAL APPLICATION*

5. LIMITACIONES, PROSPECTIVAS DE FUTURO Y APLICACIONES PRÁCTICAS

El contexto experimental de la presente investigación es altamente novedoso pues hasta la fecha no existen trabajos que hayan valorado los efectos hormonales, hematológicos y ergoespirométricos de la suplementación con TC en individuos que no practican ejercicio físico. Además, los datos reportados por la literatura científica en relación con esta microalga son extremadamente reducidos.

Por lo tanto, en este trabajo pueden destacarse las siguientes limitaciones:

- La muestra de participantes fue reducida.
- El registro nutricional no contempló la ingesta de micronutrientes que podrían ser importantes para analizar los resultados obtenidos, como el hierro o las vitaminas del complejo B.
- Solo se realizaron dos controles nutricionales objetivos, al comenzar y al finalizar el estudio, aunque los participantes confirmaron en todo momento que no habían variado su estilo de vida. Por ello, existe el riesgo de que los individuos hayan modificado de alguna manera sus hábitos relacionados con la alimentación y la actividad física durante el periodo experimental.
- No se verificaron los efectos de la TC sobre la agregación plaquetaria pues no se evaluó la actividad funcional de las plaquetas. Además, tampoco se valoraron las concentraciones de reticulocitos, cuyo dato podría ser interesante para evaluar los posibles efectos del aumento de la EPO.
- Los métodos antropométricos que evaluaron la composición corporal de los participantes son más imprecisos que el empleo de la absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA).
- En este trabajo no se evaluaron los parámetros relacionados con el estrés oxidativo, lo cual podría contribuir a las explicaciones de los posibles efectos de la TC sobre la esteroidogénesis, el perfil lipídico y los procesos hematopoyéticos.
- Solo se valoró la fuerza isométrica máxima. En este aspecto, también sería interesante evaluar la fuerza en regímenes de trabajo dinámico.
- No se analizaron los valores del CR en las zonas fisiológicas previas a los umbrales ventilatorios. Este análisis podría haber aportado una información

muy valiosa sobre la predominancia de los sustratos energéticos oxidados que contribuiría a verificar la posible existencia de diferentes adaptaciones bioenergéticas.

- No se evaluaron parámetros bioquímicos durante la prueba ergoespirométrica incremental, lo cual podría haber ayudado a explicar en gran medida ciertos efectos de la ingesta de TC sobre el metabolismo lipídico.
- Existen muy pocas investigaciones que hayan evaluado los efectos de la TC en los seres humanos. Este aspecto constituye una limitación muy importante en el presente trabajo pues la gran mayoría de investigaciones que se han considerado para la realización de esta tesis doctoral se encuentran relacionadas con otras especies y géneros de microalgas.

En lo que respecta a las perspectivas de futuro, sería importante superar las limitaciones anteriormente descritas con la finalidad de comprender mejor los mecanismos de acción de la TC. Además, en relación con las observaciones de otros autores podría ser de gran interés para la comunidad científica evaluar los efectos agudos de la ingesta de TC, lo que podría establecer los períodos temporales en los que se consiguen los mayores cambios de las concentraciones hormonales, hematológicas y de las presiones arteriales. También sería interesante realizar otras intervenciones en las que se apliquen diferentes dosis con respecto a las investigadas actualmente u otros protocolos de suplementación que fraccionen la ingesta de TC en varias tomas diarias.

Igualmente, podría ser sugerente la implementación de protocolos bioquímicos orientados a desestabilizar la MEC de esta microalga para lograr una mayor biodisponibilidad de algunos de los componentes bioactivos contenidos en la TC. Del mismo modo, sería de gran valor científico que parte de la futura investigación se oriente a descryptar las secuencias de los posibles péptidos bioactivos contenidos en la TC, pues estos podrían explicar una buena parte de los efectos fisiológicos que esta microalga posee sobre el organismo humano. Por otra parte, sería muy interesante verificar si los efectos observados de la suplementación con TC en varones también se pueden apreciar en mujeres.

Finalmente, cabe destacar que, teniendo en cuenta los resultados observados en esta investigación, la suplementación con TC podría tener diversas aplicaciones en múltiples ámbitos profesionales:

- En el área del rendimiento físico-deportivo, puede ser una estrategia útil para estimular los procesos supercompensatorios y regenerativos de los deportistas. Además, dado el amplio espectro de efectos fisiológicos que posee sobre los parámetros de fuerza muscular, de composición corporal y ergoespirométricos, la suplementación con TC podría emplearse tanto en modalidades aeróbicas como en modalidades anaeróbicas con el objetivo de conseguir distintos fines fisiológicos-metabólicos.
- En el mundo del fitness y del culturismo sería particularmente interesante el empleo de estrategias nutricionales que implementen la suplementación con TC pues en estas modalidades el objetivo elemental consiste en reducir la masa grasa conservando o aumentando los niveles de masa muscular, lo cual, sorprendentemente, ha sido observado en este trabajo.
- En el contexto sanitario debido a las propiedades ergogénicas que la TC posee podría aplicarse en pacientes ancianos y con diversas patologías muy relacionadas con el estrés oxidativo, la pérdida de fuerza y la reducción de la masa muscular como la sarcopenia, las enfermedades neurodegenerativas, el cáncer e incluso en pacientes que deben permanecer encamados durante una larga temporada. Además, a la vista de los resultados concernientes a la serie plaquetaria, las presiones arteriales y la frecuencia cardíaca, podría ser interesante la prescripción de la TC en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares como la hipertensión, la aterosclerosis y algunas arritmias de carácter taquicárdico. Por otra parte, dada la posible estimulación de los procesos hematopoyéticos de la serie blanca, la suplementación con TC podría representar una herramienta eficaz en la prevención y el tratamiento de enfermedades infecciosas.

REFERENCIAS

REFERENCES

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aagaard, P., Andersen, J. L., Bennekou, M., Larsson, B., Olesen, J. L., Cramer, R., Magnusson, S. P., Kjaer, M., y Aagaard, P. (2011). Effects of resistance training on endurance capacity and muscle fiber composition in young top-level cyclists. *Journal of Sport Medicine*, 21(6), 298–307.
- Abbott, K., Burrows, T. L., Acharya, S., Thota, R. N., y Garg, M. L. (2020). Dietary supplementation with docosahexaenoic acid rich fish oil increases circulating levels of testosterone in overweight and obese men. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 163(156), 102–110.
- Abdul, M., Baig, A., Alam, I., Sulehri, F. U., Hassan, I., Jafri, A., y Butt, H. A. (2021). Change in Hemoglobin with Androgen and Low Dose Erythropoietin Versus Erythropoietin Alone in Patients of Anemia of Chronic Kidney. *Pjmhsonline.Com*, 15(11), 456–463.
- Abe, R. J., Abe, J. ichi, Nguyen, M. T. H., Olmsted-Davis, E. A., Mamun, A., Banerjee, P., Cooke, J. P., Fang, L., Pownall, H., y Le, N. T. (2022). Free Cholesterol Bioavailability and Atherosclerosis. *Current Atherosclerosis Reports*, 24(5), 323–336.
- Abeywardena, M. Y., y Head, R. J. (2001). Longchain n-3 polyunsaturated fatty acids and blood vessel function. *Cardiovascular Research*, 52(3), 361–371.
- Adams, J. M., Difazio, L. T., Rolandelli, R. H., Luján, J. J., Haskó, G., Csóka, B., Selmeczy, Z., y Németh, Z. H. (2009). HIF-1: a key mediator in hypoxia (Review). *Acta Physiologica Hungarica*, 96(1), 19–28.
- Adi, S., Bin-Abbas, B., Wu, N. Y., y Rosenthal, S. M. (2002). Early Stimulation and Late Inhibition of Extracellular Signal-Regulated Kinase 1/2 Phosphorylation by IGF-I: A Potential Mechanism Mediating the Switch in IGF-I Action on Skeletal Muscle Cell Differentiation. *Endocrinology*, 143(2), 511–516.
- Adili, R., Hawley, M., y Holinstat, M. (2018). Regulation of platelet function and thrombosis by omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids. *Prostaglandins y Other Lipid Mediators*, 139(4), 10–18.
- Adrie, C. (1996). Antiplatelet properties of nitrogen monoxide. *Archives Des Maladies Du Coeur et Des Vaisseaux*, 89(11), 1527–1532.

- Agha, A., y Monson, J. P. (2007). Modulation of glucocorticoid metabolism by the growth hormone – IGF-1 axis. *Clinical Endocrinology*, 66(4), 459–465.
- Ahlbom, E., Prins, G. S., y Ceccatelli, S. (2001). Testosterone protects cerebellar granule cells from oxidative stress-induced cell death through a receptor mediated mechanism. *Brain Research*, 892(2), 255–262.
- Ahmed, M. H., Ghatge, M. S., y Safo, M. K. (2020). Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. *Subcellular Biochemistry*, 94(5), 345–382.
- Ahmed, N. N., Grimes, H. L., Bellacosa, A., Chan, T. O., y Tschlis, P. N. (1997). Transduction of interleukin-2 antiapoptotic and proliferative signals via Akt protein kinase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(8), 3627–3632.
- Ahn, G., Hwang, I., Park, E., Kim, J., Jeon, Y. J., Lee, J., Park, J. W., y Jee, Y. (2008). Immunomodulatory effects of an enzymatic extract from *Ecklonia cava* on murine splenocytes. *Marine Biotechnology*, 10(3), 278–289.
- Aho, V. T. E., Houser, M. C., Pereira, P. A. B., Chang, J., Rudi, K., Paulin, L., Hertzberg, V., Auvinen, P., Tansey, M. G., y Scheperjans, F. (2021). Relationships of gut microbiota, short-chain fatty acids, inflammation, and the gut barrier in Parkinson's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 16(1), 16–27.
- Akasaki, Y., Alvarez-Garcia, O., Saito, M., Caramés, B., Iwamoto, Y., y Lotz, M. K. (2014). FoxO Transcription Factors Support Oxidative Stress Resistance in Human Chondrocytes. *Arthritis y Rheumatology*, 66(12), 3349–3358.
- Akkar, I., Karaca, Z., Taheri, S., Unluhizarci, K., Hacıoglu, A., y Kelestimur, F. (2022). The stimulatory effects of glucagon on cortisol and GH secretion occur independently from FGF-21. *Endocrine*, 75(1), 211–218.
- Al-Samerria, S., Aloqaily, B., Negron, A., Wondisford, F. E., y Radovick, S. (2021). Interrupted IGF-1 Feedback in GHRH Neurons and Somatotrophs Results in Impaired Weight Gain and Increased Energy Expenditure. *Journal of the Endocrine Society*, 5(1), 52–67.
- Al-Soufi, W., y Novo, M. (2021). A Surfactant Concentration Model for the Systematic Determination of the Critical Micellar Concentration and the Transition Width. *Molecules*, 26(17), 5339–5549.
- Alderson, M. R., Tough, T. W., Davis-Smith, T., Braddy, S., Falk, B., Schooley, K. A.,

- Goodwin, R. G., Smith, C. A., Ramsdell, F., y Lynch, D. H. (1995). Fas ligand mediates activation-induced cell death in human T lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine*, 181(1), 71–77.
- Alfaro-Alfaro, Á. E., Alpízar-Cambronero, V., Duarte-Rodríguez, A. I., Feng-Feng, J., Rosales-Leiva, C., Mora-Román, J. J., Alfaro-Alfaro, Á. E., Alpízar-Cambronero, V., Duarte-Rodríguez, A. I., Feng-Feng, J., Rosales-Leiva, C., y Mora-Román, J. J. (2020). C-phycocyanins: immune system modulation and its possible application as therapy against cancer. *Revista Tecnología En Marcha*, 33(4), 125–139.
- Ali, W., Kushwaha, U. y Wamique, M. (2017). Oxidized LDL as a biomarker in metabolic syndrome. *Academia.Edu*, 3(2), 123–144.
- Allur Subramaniyan, S., Begum, N., Kim, S., Choi, Y., y Nam, T. J. (2021). Biopeptides of *Pyropia yezoensis* and their potential health benefits: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 11(9), 375–384.
- Amacher, D. E. (1998). Serum Transaminase Elevations as Indicators of Hepatic Injury Following the Administration of Drugs. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 27(2), 119–130.
- Ambrosi, M. A., Reinehr, C. O., Bertolin, T. E., y Colla, (2008). Propriedades de saúde de *Spirulina* spp. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 29(2), 167–189.
- Amos Richmond, y Qiang Hu. (2013). *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology* (1st ed.). Wiley Blackwell.
- An, H. J., Choi, H. M., Park, H. S., Han, J. G., Lee, E. H., Park, Y. S., Um, J. Y., Hong, S. H., y Kim, H. M. (2006). Oral Administration of Hot Water Extracts of *Chlorella vulgaris* Increases Physical Stamina in Mice. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 50(4), 380–386.
- Anantharajappa, K., Dharmesh, S. M., y Ravi, S. (2020). Gastro-protective potentials of *Spirulina*: role of vitamin B12. *Journal of Food Science and Technology*, 57(2), 745–753.
- Aoi, W., Naito, Y., Takanami, Y., Kawai, Y., Sakuma, K., Ichikawa, H., Yoshida, N., y Yoshikawa, T. (2004). Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(4), 480–487.

- Applegate, E. A., y Grivetti, L. E. (1997). Search for the Competitive Edge: A History of Dietary Fads and Supplements. *The Journal of Nutrition*, *127*(5), 869–873.
- Aragonès, G., Aragonès, A., Ardid-Ruiz, A., Ibars, M., Sú Arez, M., Bladé, C., y Bladé, B. (2016). Modulation of leptin resistance by food compounds. *Molecular Nutrition y Food Research*, *60*(8), 1789–1803.
- Arner, P. (2005). Effects of testosterone on fat cell lipolysis. Species differences and possible role in polycystic ovarian syndrome. *Biochimie*, *87*(1), 39–43.
- Aron-Wisnewsky, J., Warmbrunn, M. V., Nieuwdorp, M., y Clément, K. (2021). Metabolism and Metabolic Disorders and the Microbiome: The Intestinal Microbiota Associated With Obesity, Lipid Metabolism, and Metabolic Health—Pathophysiology and Therapeutic Strategies. *Gastroenterology*, *160*(2), 573–599.
- Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A., y Rafieian-Kopaei, M. (2017). The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and the Role of Antioxidants in Improving it: A Review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, *11*(5), 45–64.
- Ascenzi, F., Barberi, L., Dobrowolny, G., Villa Nova Bacurau, A., Nicoletti, C., Rizzuto, E., Rosenthal, N., Scicchitano, B. M., y Musarò, A. (2019). Effects of IGF-1 isoforms on muscle growth and sarcopenia. *Aging Cell*, *18*(3), 128–138.
- Ashall, C., Lu, J., Hsiao, E. Y., -, A., Zhou, L., Liang, Y. C., Ge, J. Q., Widowati, I., Zainuri, M., Pancasakti Kusumaningrum, H., Susilowati, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., Bourgougnon, N., y Mouget, J.-L. (2017). Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *55*(1), 167–177.
- Asztalos, B. F., Schaefer, E. J., Horvath, K. V., Yamashita, S., Miller, M., Franceschini, G., y Calabresi, L. (2007). Role of LCAT in HDL remodeling: Investigation of LCAT deficiency states. *Journal of Lipid Research*, *48*(3), 592–599.
- Avery, S. V. (2011). Molecular targets of oxidative stress. *Biochemical Journal*, *434*(2), 201–210.
- Azim, N. H., Subki, A., y Yusof, Z. N. (2018). Abiotic stresses induce total phenolic, total flavonoid and antioxidant properties in Malaysian indigenous microalgae and cyanobacterium. *Malaysian Journal of Microbiology*, *14*(1), 25–33.
- Aziz, Q., Doré, J., Emmanuel, A., Guarner, F., y Quigley, E. M. (2013). Gut microbiota

- and gastrointestinal health: Current concepts and future directions. *Neurogastroenterology and Motility*, 25(1), 4–15.
- Azlan, N. Z., Yusof, Y. A., y Makpol, S. (2020). Chlorella vulgaris Ameliorates Oxidative Stress and Improves the Muscle Regenerative Capacity of Young and Old Sprague-Dawley Rats. *Nutrients*, 12(12), 3752–3762.
- Bachman, E., Travison, T. G., Basaria, S., Davda, M. N., Guo, W., Li, M., Connor Westfall, J., Bae, H., Gordeuk, V., y Bhasin, S. (2014). Testosterone Induces Erythrocytosis via Increased Erythropoietin and Suppressed Hecpidin: Evidence for a New Erythropoietin/Hemoglobin Set Point. *The Journals of Gerontology: Series A*, 69(6), 725–735.
- Badertscher, N. (2020). The Genetics of VO₂ : What is the impact of endurance genes on VO₂ max in athletes? *The Canadian Science Fair Journal*, 4(2), 134–144.
- Badimon, L., Vilahur, G., Rocca, B., y Patrono, C. (2021). The key contribution of platelet and vascular arachidonic acid metabolism to the pathophysiology of atherothrombosis. *Cardiovascular Research*, 117(9), 2001–2015.
- Badr, G., Ramadan, N. K., Abdel-Tawab, H. S., Ahmed, S. F., y Mahmoud, M. H. (2017). Camel whey protein protects lymphocytes from apoptosis via the PI3K–AKT, NF- κ B, ATF-3, and HSP-70 signaling pathways in heat-stressed male mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 96(4), 407–416.
- Bagheri, R., Negareh, R., Motevalli, M. S., Wong, A., Ashtary-Larky, D., Kargarfard, M., y Rashidlamir, A. (2022). Spirulina supplementation during gradual weight loss in competitive wrestlers. *British Journal of Nutrition*, 127(2), 248–256.
- Ballal, S. H., Dornoto, D. T., Polack, D. C., Marciulonis, P., y Martin, K. J. (1991). Androgens Potentiate the Effects of Erythropoietin in the Treatment of Anemia of End-Stage Renal Disease. *American Journal of Kidney Diseases*, 17(1), 29–33.
- Banfalvi, G. (2016). Biological Membranes. *Permeability of Biological Membranes*, 13(15), 1–71.
- Bar-Peled, L., y Sabatini, D. M. (2014). Regulation of mTORC1 by amino acids. *Trends in Cell Biology*, 24(7), 400–406.
- Bárcenas-Pérez, D., Střížek, A., Hrouzek, P., Kopecký, J., Barradas, M., Sierra-Ramirez, A., Fernandez-Marcos, P. J., y Cheel, J. (2021). Production of Fucoxanthin from

- Phaeodactylum tricornutum Using High Performance Countercurrent Chromatography Retaining Its FOXO3 Nuclear Translocation-Inducing Effect. *Marine Drugs*, 19(9), 527–537.
- Barclay, R. D., Burd, N. A., Tyler, C., Tillin, N. A., y Mackenzie, R. W. (2019). The Role of the IGF-1 Signaling Cascade in Muscle Protein Synthesis and Anabolic Resistance in Aging Skeletal Muscle. *Frontiers in Nutrition*, 6(34), 156–167.
- Barkallah, M., Slima, A. Ben, Elleuch, F., Fendri, I., Pichon, C., Abdelkafi, S., y Baril, P. (2020). Protective Role of Spirulina platensis against Bifenthrin-Induced Reprotoxicity in Adult Male Mice by Reversing Expression of Altered Histological, Biochemical, and Molecular Markers Including MicroRNAs. *Biomolecules*, 10(5), 765–778.
- Barkia, I., Al-Haj, L., Hamid, A. A., Zakaria, M., Saari, N., y Zadjali, F. (2018). Indigenous marine diatoms as novel sources of bioactive peptides with antihypertensive and antioxidant properties. *International Journal of Food Science y Technology*, 54(5), 1514–1522.
- Basova, M. M. (2005). Fatty acid composition of lipids in microalgae. *International Journal on Algae*, 7(1), 33–57.
- Bassett, D. R., y Howley, E. T. (2000). Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med. Sci. Sports Exerc*, 32(1), 70–84.
- Basu, R., Basu, A., Grudzien, M., Jung, P., Jacobson, P., Johnson, M., Singh, R., Sarr, M., y Rizza, R. A. (2009). Liver Is the Site of Splanchnic Cortisol Production in Obese Nondiabetic Humans. *Diabetes*, 58(1), 39–45.
- Basu, R., Edgerton, D. S., Singh, R. J., Cherrington, A., y Rizza, R. A. (2006). Splanchnic Cortisol Production in Dogs Occurs Primarily in the Liver Evidence for Substantial Hepatic Specific 11 β Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Activity. *Diabetes*, 55(11), 3013–3019.
- Beattie, K., Kenny, I. C., Lyons, M., y Carson, B. P. (2014a). The effect of strength training on performance in endurance athletes. *Sports Medicine*, 44(6), 845–865.
- Beattie, K., Kenny, I. C., Lyons, M., y Carson, B. P. (2014b). The effect of strength training on performance in endurance athletes. *Sports Medicine*, 44(6), 845–865.
- Becker, K. (2001). *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism*. Lippincot

- williams and wilkins.
- Behnke, O., y Forer, A. (1998). From megakaryocytes to platelets: Platelet morphogenesis takes place in the bloodstream. *European Journal of Haematology, Supplement*, 60(61), 3–24.
- Belaidi, E., Beguin, P. C., Levy, P., Ribuot, C., y Godin-Ribuot, D. (2012). HIF-1, an oxygen and metal responsive transcription factor. *Taylor y Francis*, 26(4), 454–462.
- Bellido, J.R.; Maynar, M. (2017). *Efectos de la ingesta de Tetraselmis chuii sobre el estrés oxidativo en deportistas* [Universidad de Extremadura].
- Ben Gara, A., Ben Abdallah Kolsi, R., Chaaben, R., Hammami, N., Kammoun, M., Paolo Patti, F., El Feki, A., Fki, L., Belghith, H., y Belghith, K. (2017). Inhibition of key digestive enzymes related to hyperlipidemia and protection of liver-kidney functions by *Cystoseira crinita* sulphated polysaccharide in high-fat diet-fed rats. *Biomedicine y Pharmacotherapy*, 85(42), 517–526.
- Benavente-Valdés, J. R., Méndez-Zavala, A., Hernández-López, I., Carreón-González, B. A., Velázquez-Arellano, M. E., Morales-Oyervides, L., y Montañez-Saénz, J. C. (2021). Unconventional microalgae species and potential for their use in the food industry. *Cultured Microalgae for the Food Industry*, 12(2), 49–71.
- Benedetti, F., Aggio, V., Pratesi, M. L., Greco, G., y Furlan, R. (2020). Neuroinflammation in Bipolar Depression. *Frontiers in Psychiatry*, 11(3), 345–355.
- Bennett, J. S. (2001). Platelet-Fibrinogen Interactions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 936(1), 340–354.
- Bercea, C. I., Cottrell, G. S., Tamagnini, F., y McNeish, A. J. (2021). Omega-3 polyunsaturated fatty acids and hypertension: a review of vasodilatory mechanisms of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid. *British Journal of Pharmacology*, 178(4), 860–877.
- Berkaitan, P., Oksidatif, T., y Kajian, S. (2015). Oxidative Stress-Associated Pathology: A Review. *Sains Malaysiana*, 44(10), 1441–1451.
- Bernaerts, T. M. M., Verstreken, H., Dejonghe, C., Gheysen, L., Foubert, I., Grauwet, T., y Van Loey, A. M. (2020). Cell disruption of *Nannochloropsis* sp. improves in vitro bioaccessibility of carotenoids and ω 3-LC-PUFA. *Journal of Functional Foods*, 65(3), 103–123.

- Berra, E., Roux, D., Richard, D. E., y Pouysségur, J. (2001). Hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) escapes O₂-driven proteasomal degradation irrespective of its subcellular localization: nucleus or cytoplasm. *EMBO Reports*, 2(7), 615–620.
- Bessis, M. (1958). Erythroblastic island, functional unity of bone marrow. *Revue d'hématologie*, 44(23), 134–156.
- Bhardwaj, G., Penniman, C. M., Jena, J., Suarez Beltran, P. A., Foster, C., Poro, K., Junck, T. L., Hinton, A. O., Souvenir, R., Fuqua, J. D., Morales, P. E., Bravo-Sagua, R., Sivitz, W. I., Lira, V. A., Abel, E. D., y O'Neill, B. T. (2021). Insulin and IGF-1 receptors regulate complex I-dependent mitochondrial bioenergetics and supercomplexes via FoxOs in muscle. *The Journal of Clinical Investigation*, 131(18), 135–167.
- Bhatt, T., y Patel, K. (2020). Carotenoids: Potent to Prevent Diseases Review. *Natural Products and Bioprospecting*, 10(3), 109–117.
- Bielecki, B., Mattern, C., Ghoumari, A. M., Javaid, S., Smietanka, K., Ghanem, C. A., Mhaouty-Kodja, S., Ghandour, M. S., Baulieu, E. E., Franklin, R. J. M., Schumacher, M., y Traiffort, E. (2016). Unexpected central role of the androgen receptor in the spontaneous regeneration of myelin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(51), 14829–14834.
- Bird, J. K., Calder, P. C., y Eggersdorfer, M. (2018). The Role of n-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids in Cardiovascular Disease Prevention, and Interactions with Statins. *Nutrients*, 10(6), 775–785.
- Birzniece, V. (2015). Doping in sport: effects, harm and misconceptions. *Internal Medicine Journal*, 45(3), 239–248.
- Birzniece, V. (2018). Hepatic actions of androgens in the regulation of metabolism. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 25(3), 201–208.
- Birzniece, V., y Ho, K. K. Y. (2021). Mechanism in endocrinology: Paracrine and endocrine control of the growth hormone axis by estrogen. *European Journal of Endocrinology*, 184(6), 269–278.
- Bishop, D. (2012). Dietary Supplements and Team-Sport Performance. *Journal of Sports Medicine*, 40(12), 995–1017.
- Björntorp, P., y Rosmond, R. (2000). Obesity and cortisol. *Nutrition*, 16(10), 924–936.

- Blaauw, B., y Reggiani, C. (2014). The role of satellite cells in muscle hypertrophy. *Journal of Muscle Research and Cell Motility*, 35(1), 3–10.
- Black Johnson, M., y Steven Thiese, A. M. (1992). A Review of Overtraining Syndrome—Recognizing the Signs and Symptoms. *Journal of Athletic Training*, 27(4), 367–378.
- Blair, P., y Flaumenhaft, R. (2009). Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood Reviews*, 23(4), 177–189.
- Bodine, S. C., Stitt, T. N., Gonzalez, M., Kline, W. O., Stover, G. L., Bauerlein, R., Zlotchenko, E., Scrimgeour, A., Lawrence, J. C., Glass, D. J., y Yancopoulos, G. D. (2001). Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nature Cell Biology*, 3(11), 1014–1019.
- Bompa, B. (2017). *Periodización del entrenamiento deportivo*. Paidotribo.
- Bompa, T. O., y Buzzichelli Carlo. (2017). *Periodización del entrenamiento deportivo*. Paidotribo.
- Borresen, J., y Lambert, M. I. (2008). Autonomic control of heart rate during and after exercise: Measurements and implications for monitoring training status. *Sports Medicine*, 38(8), 633–646.
- Bouglé, D., y Bouhallab, S. (2016). Dietary bioactive peptides: Human studies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(2), 335–343.
- Bowen, H. (1979). *Environmental chemistry of the elements*. Academic Press.
- Boyett, M. R., D'souza, A., Zhang, H., Morris, G. M., Dobrzynski, H., y Monfredi, O. (2013). Viewpoint: is the resting bradycardia in athletes the result of remodeling of the sinoatrial node rather than high vagal tone? *Journal of Applied Physiology*, 114(9), 1351–1355.
- Brad J. Schoenfeld. (2016). *Science and Development of Muscle Hypertrophy* (2nd ed.). Human Kinetics.
- Bredesen, D. E. (2009). Apoptosis: Overview and Signal Transduction Pathways. *Journal of Neurotrauma*, 17(10), 801–810.
- Brickley, G., Doust, J., y Williams, C. A. (2002). Physiological responses during exercise to exhaustion at critical power. *European Journal of Applied Physiology*, 88(1),

146–151.

- Brines, M., y Cerami, A. (2006). Discovering erythropoietin's extra-hematopoietic functions: Biology and clinical promise. *Kidney International*, *70*(2), 246–250.
- Brito, A. de F., Silva, A. S., de Oliveira, C. V. C., de Souza, A. A., Ferreira, P. B., de Souza, I. L. L., da Cunha Araujo, L. C., da Silva Félix, G., de Souza Sampaio, R., Tavares, R. L., de Andrade Pereira, R., Neto, M. M., y da Silva, B. A. (2020). Spirulina platensis prevents oxidative stress and inflammation promoted by strength training in rats: dose-response relation study. *Scientific Reports*, *10*(1), 1–8.
- Brockenbrough, A. T., Dittrich, M. O., Page, S. T., Smith, T., Stivelman, J. C., y Bremner, W. J. (2006). Transdermal Androgen Therapy to Augment EPO in the Treatment of Anemia of Chronic Renal Disease. *American Journal of Kidney Diseases*, *47*(2), 251–262.
- Broudy, V., Lin, N., Brice, M., Nakamoto, B., y Papayannopoulou, T. (1991). Erythropoietin Receptor Characteristics on Primary Human Erythroid Cells. *Blood*, *77*(12), 2583–2590.
- Bu, L., Cao, X., Zhang, Z., Wu, H., Guo, R., y Ma, M. (2020). Decreased secretion of tumor necrosis factor- α attenuates macrophages-induced insulin resistance in skeletal muscle. *Life Sciences*, *12*(4), 456–477.
- Bublitz, C., y Steavenson, S. (1988). The pentose phosphate pathway in the endoplasmic reticulum. *Journal of Biological Chemistry*, *263*(26), 12849–12853.
- Bucci, L. (2020). *Nutrients as Ergogenic Aids for Sports and Exercise*. CRC Press.
- Burnley, M., y Jones, A. M. (2007). Oxygen uptake kinetics as a determinant of sports performance. *European Journal of Sport Science*, *7*(2), 63–79.
- Byers, J. S., Huguenard, A. L., Kuruppu, D., Liu, N. K., Xu, X. M., y Sengelau, D. R. (2012). Neuroprotective effects of testosterone on motoneuron and muscle morphology following spinal cord injury. *Journal of Comparative Neurology*, *520*(12), 2683–2696.
- Byrnes, D. M., Vargas, F., Dermarkarian, C., Kahn, R., Kwon, D., Hurley, J., Schatz, J. H., y Masetti, R. (2019). Complications of Intrathecal Chemotherapy in Adults: Single-Institution Experience in 109 Consecutive Patients. *Journal of Oncology*, *2019*(2), 213–223.

- Cai, B., Zhao, X., Luo, L., Wan, P., Chen, H., y Pan, J. (2022). Structural characterization, and in vitro immunostimulatory and antitumor activity of an acid polysaccharide from *Spirulina platensis*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 19(6), 462–473.
- Caillaud, C., Connes, P., Ben Saad, H., y Mercier, J. (2015). Erythropoietin enhances whole body lipid oxidation during prolonged exercise in humans. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 71(1), 9–16.
- Calbet, J. A. L., Gonzalez-Alonso, J., Helge, J. W., Søndergaard, H., Munch-Andersen, T., Boushe, R., y Saltin, B. (2007). Cardiac output and leg and arm blood flow during incremental exercise to exhaustion on the cycle ergometer. *Journal of Applied Physiology*, 103(3), 969–978.
- Cámara, M., y Conchello, M. (2017). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) en relación a una solicitud de evaluación inicial para la comercialización de un liofilizado de la microalga marina *Tetraselmis chuii* en complemen. *Revista Del Comité Científico de La Aecosan*, 25(14), 11–21.
- Campos, A. C. P., Antunes, G. F., Matsumoto, M., Pagano, R. L., y Martinez, R. C. R. (2020). Neuroinflammation, Pain and Depression: An Overview of the Main Findings. *Frontiers in Psychology*, 11(2), 567–578.
- Cannarella, R., Condorelli, R. A., La Vignera, S., y Calogero, A. E. (2018). Effects of the insulin-like growth factor system on testicular differentiation and function: a review of the literature. *Andrology*, 6(1), 3–9.
- Canzano, P., Brambilla, M., Porro, B., Cosentino, N., Tortorici, E., Vicini, S., Poggio, P., Cascella, A., Pengo, M. F., Veglia, F., Fiorelli, S., Bonomi, A., Cavalca, V., Trabattoni, D., Andreini, D., Omodeo Salè, E., Parati, G., Tremoli, E., y Camera, M. (2021). Platelet and Endothelial Activation as Potential Mechanisms Behind the Thrombotic Complications of COVID-19 Patients. *Basic to Translational Science*, 6(3), 202–218.
- Carlezon, W. A., Duman, R. S., y Nestler, E. J. (2005). The many faces of CREB. *Trends in Neurosciences*, 28(8), 436–445.
- Carroll, T. J., Riek, S., y Carson, R. G. (2001). Neural adaptations to resistance training:

- Implications for movement control. *Sports Medicine*, 31(12), 829–840.
- Castellani, S., D’Oria, S., Diana, A., Polizzi, A. M., Di Gioia, S., Marigliò, M. A., Guerra, L., Favia, M., Vinella, A., Leonetti, G., De Venuto, D., Gallo, C., Montemurro, P., y Conese, M. (2019). G-CSF and GM-CSF Modify Neutrophil Functions at Concentrations found in Cystic Fibrosis. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11.
- Cawthorn, W. P., Scheller, E. L., y MacDougald, O. A. (2012). Adipose tissue stem cells meet preadipocyte commitment: Going back to the future. *Journal of Lipid Research*, 53(2), 227–246.
- Cay, M., Ucar, C., Senol, D., Cevirgen, F., Ozbag, D., Altay, Z., y Yildiz, S. (2018). Effect of increase in cortisol level due to stress in healthy young individuals on dynamic and static balance scores. *Northern Clinics of Istanbul*, 5(4), 295–302.
- Cedó, L., Farràs, M., Lee-Rueckert, M., y Escolà-Gil, J. C. (2019). Molecular Insights into the Mechanisms Underlying the Cholesterol-Lowering Effects of Phytosterols. *Current Medicinal Chemistry*, 26(37), 6704–6723.
- Cembella, A. D., Antia, N. J., y Harrison, P. J. (2008). The Utilization of Inorganic and Organic Phosphorous Compounds as Nutrients by Eukaryotic Microalgae: A Multidisciplinary Perspective: Part I. *Critical Reviews in Microbiology*, 10(4), 317–391.
- Cervera, P. (1983). Tablas de composición de alimentos. *Revista de Enfermería (Barcelona, Spain)*, 6(56), 14–16.
- Ceyhan, T., Beyan, C., Başer, I., Kaptan, K., Güngör, S., y Ifran, A. (2006). The effect of pre-eclampsia on complete blood count, platelet count and mean platelet volume. *Annals of Hematology*, 85(5), 320–322.
- Cha, K., Koo, S., Song, D., and, C. P.-J. of agricultural, y 2012, undefined. (2012). Effect of microfluidization on bioaccessibility of carotenoids from *Chlorella ellipsoidea* during simulated digestion. *Journal of Agriculture*, 60(37), 9437–9442.
- Chagas, F. D. da S., Lima, G. C., dos Santos, V. I. N., Costa, L. E. C., de Sousa, W. M., Sombra, V. G., de Araújo, D. F., Barros, F. C. N., Marinho-Soriano, E., de Andrade Feitosa, J. P., de Paula, R. C. M., Pereira, M. G., y Freitas, A. L. P. (2020). Sulfated polysaccharide from the red algae *Gelidiella acerosa*: Anticoagulant, antiplatelet and antithrombotic effects. *International Journal of Biological Macromolecules*,

- 159(13), 415–421.
- Chambon, P. (1996). A decade of molecular biology of retinoic acid receptors. *The FASEB Journal*, 10(9), 940–954.
- Chang, L., y Karin, M. (2001). Mammalian MAP kinase signalling cascades. *Nature*, 410(6824), 37–40.
- Chaplin, D. D. (2010). Overview of the immune response. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(2), 3–23.
- Chasis, J. A., y Mohandas, N. (2008). Erythroblastic islands: Niches for erythropoiesis. *Blood*, 112(3), 470–478.
- Chaudhary, B., Chaudhary, P., y Chauhan, A. (2020). Review on Importance of Carotenoids in health and medicine. *International Medico-Legal Reporter Journal*, 3(1), 124–156.
- Chen, B., You, W., Huang, J., Yu, Y., y Chen, W. (2010). Isolation and antioxidant property of the extracellular polysaccharide from *Rhodella reticulata*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(5), 833–840.
- Chen, F., y Huang, G. (2018). Preparation and immunological activity of polysaccharides and their derivatives. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112(3), 211–216.
- Chen, K., y Roca, M. (2019). Cooking effects on bioaccessibility of chlorophyll pigments of the main edible seaweeds. *Food Chemistry*, 295, 101–109.
- Chen, Y. C. (2012). The biomass and total lipid content and composition of twelve species of marine diatoms cultured under various environments. *Food Chemistry*, 131(1), 211–219.
- Cheng, H. L., Randolph, A., Yee, D., Delafontaine, P., Tennekoon, G., y Feldman, E. L. (1996). Characterization of Insulin-Like Growth Factor-I and Its Receptor and Binding Proteins in Transected Nerves and Cultured Schwann Cells. *Journal of Neurochemistry*, 66(2), 525–536.
- Chengwu Zhang. (1994). Effect of C-phycocyanin from *Spirulina platensis* on erythropoiesis in mice. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 6(24), 345–367.
- Chiba, Y., Mizoguchi, I., Hasegawa, H., Ohashi, M., Orii, N., Nagai, T., Sugahara, M.,

- Miyamoto, Y., Xu, M., Owaki, T., y Yoshimoto, T. (2018). Regulation of myelopoiesis by proinflammatory cytokines in infectious diseases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75(8), 1363–1376.
- Chicharro J. L., y López L. M. (2006). *Fisiología Clínica del Ejercicio*. Médica Panamericana.
- Chien, Y., Rosal, K., y Chung, B. chu. (2017). Function of CYP11A1 in the mitochondria. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 441(345), 55–61.
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306.
- Chiu, H.-F., Yang, S.-P., Kuo, Y.-L., Lai, Y.-S., y Chou, T.-C. (2006). Mechanisms involved in the antiplatelet effect of C-phycoyanin. *British Journal of Nutrition*, 95(2), 435–440.
- Chiu, H. F., Lee, H. J., Han, Y. C., Venkatakrishnan, K., Golovinskaia, O., y Wang, C. K. (2021). Beneficial effect of *Chlorella pyrenoidosa* drink on healthy subjects: A randomized, placebo-controlled, double-blind, cross-over clinical trial. *Journal of Food Biochemistry*, 45(4), 136–167.
- Cho, J. A., Baek, S. Y., Cheong, S. H., y Kim, M. R. (2020). Spirulina Enhances Bone Modeling in Growing Male Rats by Regulating Growth-Related Hormones. *Nutrients*, 12(4), 1187–1197.
- Chow, A., Huggins, M., Ahmed, J., Hashimoto, D., Lucas, D., Kunisaki, Y., Pinho, S., Leboeuf, M., Noizat, C., Van Rooijen, N., Tanaka, M., Zhao, Z. J., Bergman, A., Merad, M., y Frenette, P. S. (2013). CD169 + macrophages provide a niche promoting erythropoiesis under homeostasis and stress. *Nature Medicine*, 19(4), 429–436.
- Cicchella, A., Stefanelli, C., y Massaro, M. (2021). Upper Respiratory Tract Infections in Sport and the Immune System Response. A Review. *Biology*, 10(5), 372–375.
- Ciftci, O., Ozdemir, I., Aydin, M., y Beytur, A. (2012). Beneficial effects of chrysin on the reproductive system of adult male rats. *Andrologia*, 44(3), 181–186.
- Cintha Riris, A. A. I. D., I'tishom, R., y Khaerunnisa, S. (2021). Role of antioxidant to protect Leydig cells induced by reactive oxygen species: a literature review. *Qanun Medika*, 5(1), 49–58.

- Cirulis, J. T., Scott, J. A., y Ross, G. M. (2013). Management of oxidative stress by microalgae1. *Canadian Journal Of Physiology and Phatology*, 91(1), 15–21.
- Claessens, F., Verrijdt, G., Schoenmakers, E., Haelens, A., Peeters, B., Verhoeven, G., y Rombauts, W. (2001). Selective DNA binding by the androgen receptor as a mechanism for hormone-specific gene regulation. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 76(1–5), 23–30.
- Clark, M. J., Petroski, G. F., Mazurek, M. O., Hagglund, K. J., Sherman, A. K., Lammy, A. B., Childers, M. K., y Acuff, M. E. (2008). Testosterone replacement therapy and motor function in men with spinal cord injury: A retrospective analysis. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 87(4), 281–284.
- Clemmons, D. R. (2009). Role of IGF-I in skeletal muscle mass maintenance. *Trends in Endocrinology y Metabolism*, 20(7), 349–356.
- Close, G. L., Hamilton, D. L., Philp, A., Burke, L. M., y Morton, J. P. (2016). New strategies in sport nutrition to increase exercise performance. *Free Radical Biology and Medicine*, 98(5), 144–158.
- Codella, R., Luzi, L., y Terruzzi, I. (2018). Exercise has the guts: How physical activity may positively modulate gut microbiota in chronic and immune-based diseases. *Digestive and Liver Disease*, 50(4), 331–341.
- Collino, M., Thiemermann, C., Cerami, A., y Brines, M. (2015). Flipping the molecular switch for innate protection and repair of tissues: Long-lasting effects of a non-erythropoietic small peptide engineered from erythropoietin. *Pharmacology y Therapeutics*, 151(12), 32–40.
- Collins, J. F., Honda, T., Knobel, S., Bulus, N. M., Conary, J., DuBois, R., y Ghishan, F. K. (1993). Molecular cloning, sequencing, tissue distribution, and functional expression of a Na⁺/H⁺ exchanger (NHE-2). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90(9), 3938–3942.
- Colusse, G. A., Carneiro, J., Duarte, M. E. R., Carvalho, J. C. de, y Nosedá, M. D. (2022). Advances in microalgal cell wall polysaccharides: a review focused on structure, production, and biological application. *Critical Reviews in Biotechnology*, 42(4), 562–577.
- Combs, G. F. (2015). Biomarkers of Selenium Status. *Nutrients*, 7(4), 2209–2236.

- Cometti G. (2007). *Los métodos modernos de musculación*. Paidotribo.
- Cooper, M. S., y Stewart, P. M. (2009). 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 and Its Role in the Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis, Metabolic Syndrome, and Inflammation. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, 94(12), 4645–4654.
- Cormier, M., Ghouili, F., Roumaud, P., Bauer, W., Touaibia, M., y Martin, L. J. (2018). Influences of flavones on cell viability and cAMP-dependent steroidogenic gene regulation in MA-10 Leydig cells. *Cell Biology and Toxicology*, 34(1), 23–38.
- Cormier, M., Ghouili, F., Roumaud, P., Martin, L. J., y Touaibia, M. (2017). Influence of flavonols and quercetin derivative compounds on MA-10 Leydig cells steroidogenic genes expressions. *Toxicology in Vitro*, 44(2), 111–121.
- Costello, L. C., y Franklin, R. B. (1993). Testosterone regulates pyruvate dehydrogenase activity of prostate mitochondria. *Hormone and Metabolic Research*, 25(5), 268–270.
- Coulombier, N., Jauffrais, T., y Lebouvier, N. (2021). Antioxidant Compounds from Microalgae: A Review. *Marine Drugs*, 19(10), 560–571.
- Couture, R., Mora, N., Al Bittar, S., Najih, M., Touaibia, M., y Martin, L. J. (2020). Luteolin modulates gene expression related to steroidogenesis, apoptosis, and stress response in rat LC540 tumor Leydig cells. *Cell Biology and Toxicology*, 36(1), 31–49.
- Cox, A., y Pyne, D. (2014). Cytokine responses to treadmill running in healthy and illness-prone athletes. *Medical Sciences*, 39(11), 1918–1926.
- Craft, N., Haitema, T., Garnett, K., Fitch, K., Anim, C. D.-E., y 2004, U. (2004). Carotenoid, tocopherol, and retinol concentrations in elderly human brain. *Antioxidants Research*, 14(15), 145–156.
- Cruz, J. R. A., Armesilla, M. D. C., De Lucas, A. H., Riaza, L. M., Pascual, C. M., Manzanido, J. P., Quintana, M. S., y Belando, J. E. S. (2010). Protocolo de valoración de la composición corporal para el reconocimiento médico-deportivo. documento de consenso del grupo español de cineantropometría (grec) de la federación española de medicina del deporte (femedede). Versión 2010. *Archivos de Medicina Del Deporte*, 27(139), 330–344.

- Cubrilo, D., Djordjevic, D., Zivkovic, V., Djuric, D., Blagojevic, D., Spasic, M., y Jakovljevic, V. (2011). Oxidative stress and nitrite dynamics under maximal load in elite athletes: Relation to sport type. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 355(1–2), 273–279.
- Cunanan, A. J., DeWeese, B. H., Wagle, J. P., Carroll, K. M., Sausaman, R., Hornsby, W. G., Haff, G. G., Triplett, N. T., Pierce, K. C., y Stone, M. H. (2018). The General Adaptation Syndrome: A Foundation for the Concept of Periodization. *Sports Medicine* 2018 48:4, 48(4), 787–797.
- Cunha, S. A., y Pintado, M. E. (2022). Bioactive peptides derived from marine sources: Biological and functional properties. *Trends in Food Science y Technology*, 119(3), 348–370.
- Cunningham, J. T., Rodgers, J. T., Arlow, D. H., Vazquez, F., Mootha, V. K., y Puigserver, P. (2007). mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1–PGC-1 α transcriptional complex. *Nature*, 450(7170), 736–740.
- da Silva Dias, R., y Gómez-Conesa, A. (2008). Síndrome de los isquiotibiales acortados. *Fisioterapia*, 30(4), 186–193.
- Dahl, W. J., Rivero Mendoza, D., y Lambert, J. M. (2020). Diet, nutrients and the microbiome. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 171(13), 237–263.
- D. Hannelore (2020). Diet and the gut microbiome: From hype to hypothesis. *British Journal of Nutrition*, 124(6), 521–530.
- Daniels, L. A. (1996). Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research* , 54(3), 185–199.
- Darbandi, M., Darbandi, S., Agarwal, A., Sengupta, P., Durairajanayagam, D., Henkel, R., y Sadeghi, M. R. (2018). Reactive oxygen species and male reproductive hormones. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 1–14. <https://rbej.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12958-018-0406-2>
- Dasgupta, L. (2021). Doping in Non-Olympic Sports : Challenging the Legitimacy of WADA? In *Doping in Non-Olympic Sports*. Routledge.
- Daskaya-Dikmen, C., Yucetepe, A., Karbancioglu-Guler, F., Daskaya, H., y Ozcelik, B. (2017). Angiotensin-I-Converting Enzyme (ACE)-Inhibitory Peptides from Plants.

Nutrients, 9(4), 325–335.

De Jesus Raposo, M. F., De Morais, R. y De Morais, A. . (2013). Bioactivity and Applications of Sulphated Polysaccharides from Marine Microalgae. *Marine Drugs*, 11(1), 233–252.

De Morais, M. G., Da Fontoura Prates, D., Moreira, J. B., Duarte, J. H., y Costa, J. A. V. (2018). Phycocyanin from Microalgae: Properties, Extraction and Purification, with Some Recent Applications. *Food Bioscience*, 14(1), 30–37.

De Pergola, G. (2000). The adipose tissue metabolism: role of testosterone and dehydroepiandrosterone. *International Journal of Obesity*, 24(2), 59–63.

Debasis, B., y Sreejayan, N. (2018). *Nutrition and Enhanced Sports Performance: Muscle Building, Endurance, and Strength*. Elsevier.

DeBoer, M. D., Lee, A. M., Herbert, K., Long, J., Thayu, M., Griffin, L. M., Baldassano, R. N., Denson, L. A., Zemel, B. S., Denburg, M. R., Herskovitz, R., y Leonard, M. B. (2018). Increases in IGF-1 After Anti-TNF- α Therapy Are Associated With Bone and Muscle Accrual in Pediatric Crohn Disease. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, 103(3), 936–945.

Deets, K. A., y Vance, R. E. (2021). Inflammasomes and adaptive immune responses. *Nature Immunology* , 22(4), 412–422.

Del Mondo, A., Smerilli, A., Ambrosino, L., Albini, A., Noonan, D. M., Sansone, C., y Brunet, C. (2021). Insights into phenolic compounds from microalgae: structural variety and complex beneficial activities from health to nutraceuticals. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(2), 155–171.

Demarco, M., Oliveira de Moraes, J., Matos, Â. P., Derner, R. B., de Farias Neves, F., y Tribuzi, G. (2022). Digestibility, bioaccessibility and bioactivity of compounds from algae. In *Trends in Food Science y Technology* (Vol. 121). Elsevier.

Dembitsky, V. M., Rozentsvet, O. A., y Pechenkina, E. E. (1990). Glycolipids, phospholipids and fatty acids of brown algae species. *Phytochemistry*, 29(11), 3417–3421.

Deng, R., y Chow, T. J. (2010). Hypolipidemic, Antioxidant, and Antiinflammatory Activities of Microalgae Spirulina. *Cardiovascular Therapeutics*, 28(4), 33–45.

- Deng, X., Xiao, L., Lang, W., Gao, F., Ruvolo, P., y May, W. S. (2001). Novel Role for JNK as a Stress-activated Bcl2 Kinase. *Journal of Biological Chemistry*, 276(26), 23681–23688.
- Deshet-Unger, N., Oster, H. S., Prutchi-Sagiv, S., Maaravi, N., Golishevski, N., Neumann, D., y Mittelman, M. (2017). Erythropoietin administration is associated with improved T-cell properties in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia Research*, 52(13), 20–27.
- Devis Devís, J., y Peiró Valert, C. (1992). Physical exercise and health promotion in childhood and youth. *Gaceta Sanitaria*, 6(33), 263–268.
- Díaz, M. A., Giménez-Blasi, N., Latorre, J. A., Martínez-Bebia, M., Bach-Faig, A., y Mariscal-Arcas, M. (2021). Role of nutrition in the response to upper respiratory infections in elite athletes. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*, 71(1), 61–78.
- Dinicolantonio, J. J., y Okeefe, J. (2019). Importance of maintaining a low omega-6/omega-3 ratio for reducing platelet aggregation, coagulation and thrombosis. *Open Heart*, 6(1), 101–111.
- Dirix, A., Knuttgen, H. G., y Blackwell, K. T. (1989). Principles of Exercise Biochemistry (Medicine in Sport). *British Journal of Sports Medicine*, 23(3), 199–209.
- Doblin, M. A., Blackburn, S. I., y Hallegraeff, G. M. (1999). Comparative study of selenium requirements of three phytoplankton species: *Gymnodinium catenatum*, *Alexandrium minutum* (Dinophyta) and *Chaetoceros* cf. *tenuissimus* (Bacillariophyta). *Journal of Plankton Research*, 21(6), 1153–1169.
- Dockrell, M. E. C., Walker, B. R., Noon, J. P., Watt, G. C. M., Williams, B. C., y Webb, D. J. (1999). Platelet aggregation in young men with contrasting predisposition to high blood pressure. *American Journal of Hypertension*, 12(2 I), 115–119.
- Dong, K. L. (2002). Androgen receptor enhances myogenin expression and accelerates differentiation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 294(2), 408–413.
- Doty, R. T., Phelps, S. R., Shadle, C., Sanchez-Bonilla, M., Keel, S. B., y Abkowitz, J. L. (2015). Coordinate expression of heme and globin is essential for effective erythropoiesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(12), 4681–4691.

- Douglas, R. S., Gianoukakis, A. G., Kamat, S., y Smith, T. J. (2007). Aberrant Expression of the Insulin-Like Growth Factor-1 Receptor by T Cells from Patients with Graves' Disease May Carry Functional Consequences for Disease Pathogenesis. *The Journal of Immunology*, 178(5), 3281–3287.
- Doyen, B., Matelot, D., y Carré, F. (2019). Asymptomatic bradycardia amongst endurance athletes. *Physician and Sportsmedicine.*, 47(3), 249–252.
- Draper, N. (2014). *Exercise Physiology : for Health and Sports Performance* (1st ed., Vol. 1). Routledge.
- Duan, L. P., Wang, H. H., y Wang, D. Q. H. (2004). Cholesterol absorption is mainly regulated by the jejunal and ileal ATP-binding cassette sterol efflux transporters Abcg5 and Abcg8 in mice. *Journal of Lipid Research*, 45(7), 1312–1323.
- E. Hall John. (2020). *Guyton y Hall. Tratado de fisiología médica* . Elsevier.
- Eacker, S. M., Agrawal, N., Qian, K., Dichek, H. L., Gong, E. Y., Lee, K., y Braun, R. E. (2008). Hormonal Regulation of Testicular Steroid and Cholesterol Homeostasis. *Molecular Endocrinology*, 22(3), 623–635.
- Eissa, L. A., Abdel-Rahman, N., y Eraky, S. M. (2019). Effects of omega-3 fatty acids and pioglitazone combination on insulin resistance through fibroblast growth factor 21 in type 2 diabetes mellitus. *Food Science and Technology*, 2(2), 75–86.
- El-Baz, F. K., Salama, A. A. A., y Hussein, R. A. (2020). *Dunaliella salina* microalgae oppose thioacetamide-induced hepatic fibrosis in rats. *Toxicology Reports*, 7(2), 36–45.
- Elias, Z., Theophilos, P., Giorgos, D., Nikos, M., Polixeni, A., Smirniotou, A., y Paradisis, G. (2021). Time to exhaustion at 90 and 100% vo2max and physiological determinants of 3 km performance in elite cyclists. *European Journal of Physical Education and Sport Science*, 6(10).
- Elliott, J., Mishler, D., y Agarwal, R. (2009). Hyporesponsiveness to Erythropoietin: Causes and Management. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 16(2), 94–100.
- Elsawy, H., Badr, G. M., Sedky, A., Abdallah, B. M., Alzahrani, A. M., y Abdel-Moneim, A. M. (2019). Rutin ameliorates carbon tetrachloride (CCl4)-induced hepatorenal toxicity and hypogonadism in male rats. *PeerJ*, 7(56), 145–176.

- Engan, H., Patrician, A., Lodin-Sundstrom, A., Johansson, H., Melin, M., y Schagatay, E. (2020). Spleen contraction and Hb elevation after dietary nitrate intake. *Journal of Applied Physiology*, 129(6), 1324–1329.
- Engert, J. C., Berglund, E. B., y Rosenthal, N. (1996). Proliferation precedes differentiation in IGF-I-stimulated myogenesis. *Journal of Cell Biology*, 135(2), 431–440.
- Errico, T. L., Chen, X., Martin Campos, J. M., Julve, J., Escolà-Gil, J. C., y Blanco-Vaca, F. (2013). Mecanismos básicos: estructura, función y metabolismo de las lipoproteínas plasm. *Clínica e Investigación En Arteriosclerosis*, 25(2), 98–103.
- Eschbach, J. W. (2005). Iron requirements in erythropoietin therapy. *Best Practice y Research Clinical Haematology*, 18(2), 347–361.
- Eseberri, I., Gómez-Zorita, S., Trepiana, J., González-Arceo, M., Aguirre, L., Milton-Laskibar, I., González, M., Fernández-Quintela, A., y Portillo, M. P. (2019). Anti-Obesity Effects of Microalgae. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 41–53.
- Espersen, K., Frandsen, H., Lorentzen, T., Kanstrup, I. L., y Christensen, N. J. (2002). The human spleen as an erythrocyte reservoir in diving-related interventions. *Journal of Applied Physiology*, 92(5), 2071–2079.
- Eter, P., Elves, J. D., y Oitt, V. M. R. (2000). The Immune System. *Advances in Immunology*, 343(1), 37–49.
- Evans, T. (2005). Regulation of hematopoiesis by retinoid signaling. *Experimental Hematology*, 33(9), 1055–1061.
- Evans, W. J., y Hughes, V. A. (1985). Dietary carbohydrates and endurance exercise. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 41(5), 1146–1154.
- Ewa Nagańska, Anna Taraszewska, Ewa Matyja, P., Grieb, J., y anina Rafałowska. (2010). Neuroprotective effect of erythropoietin in amyotrophic lateral sclerosis (ALS) model in vitro . Ultrastructural study. *Endocrinology*, 14(5), 145–167.
- Fairweather-Tait, S. J., Bao, Y., Broadley, M. R., Collings, R., Ford, D., Hesketh, J. E., y Hurst, R. (2011). Selenium in Human Health and Disease. *Antioxidant and Redox Signaling*, 14(7), 1337–1383.

- Fairweather-Tait, S. J., Collings, R., y Hurst, R. (2010). Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(5), 1484–1491.
- Fakhri, S., Abbaszadeh, F., Dargahi, L., y Jorjani, M. (2018). Astaxanthin: A mechanistic review on its biological activities and health benefits. *Pharmacological Research*, 136(156), 1–20.
- Falcone Ferreyra, M. L., Rius, S. P., y Casati, P. (2012). Flavonoids: Biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications. *Frontiers in Plant Science*, 3(1), 222–232.
- Fan, X., Bai, L., Zhu, L., Yang, L., y Zhang, X. (2014). Marine algae-derived bioactive peptides for human nutrition and health. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(38), 9211–9222.
- Fan, Y., He, X. J., Zhou, S., Luo, A., He, T., y Chun, Z. (2009). Composition analysis and antioxidant activity of polysaccharide from *Dendrobium denneanum*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 45(2), 169–173.
- Farag, M. R., Abd EL-Aziz, R. M., Ali, H. A., y Ahmed, S. A. (2016). Evaluating the ameliorative efficacy of *Spirulina platensis* on spermatogenesis and steroidogenesis in cadmium-intoxicated rats. *Environmental Science and Pollution Research International*, 23(3), 2454–2466.
- Fargo, K. N., Foster, A. M., y Sengelaub, D. R. (2009). Neuroprotective effect of testosterone treatment on motoneuron recruitment following the death of nearby motoneurons. *Developmental Neurobiology*, 69(12), 825–835.
- Fargo, K. N., y Sengelaub, D. R. (2007). Androgenic, but not estrogenic, protection of motoneurons from somal and dendritic atrophy induced by the death of neighboring motoneurons. *Developmental Neurobiology*, 67(8), 1094–1106.
- Faria, E. W., Parker, D. L., y Faria, I. E. (2005). The science of cycling: Physiology and training. *Sports Medicine*, 35(4), 285–312.
- Faude, O., Kindermann, W., y Meyer, T. (2009). Lactate threshold concepts: How valid are they? *Sports Medicine*, 39(6), 469–490.
- Feingold, K. R., y Grunfeld, C. (2015). Introduction to Lipids and Lipoproteins. *Endotext*, 12(3), 567–578.

- Feldman, E. L., Sullivan, K. A., Kim, B., y Russell, J. W. (1997). Insulin-like Growth Factors Regulate Neuronal Differentiation and Survival. *Neurobiology of Disease*, 4(3–4), 201–214.
- Fernandes, A. S., Nascimento, T. C., Pinheiro, P. N., Vendruscolo, R. G., Wagner, R., de Rosso, V. V., Jacob-Lopes, E., y Zepka, L. Q. (2021). Bioaccessibility of microalgae-based carotenoids and their association with the lipid matrix. *Food Research International*, 148(12), 110–130.
- Fernández-Rojas, M., Rodríguez, L., Trostchansky, A., y Fuentes, E. (2022). Regulation of platelet function by natural bioactive compounds. *Food Bioscience*, 48(2), 101742.
- Fernández Vázquez, G., Torrecilla García, E., y Rubio Herrera, M. Á. (2011). El síndrome metabólico como síndrome de Cushing intrahepatocitario. *Endocrinología y Nutrición*, 58(4), 153–156.
- Fernyhough, P., Willars, G. B., Lindsay, R. M., y Tomlinson, D. R. (1993). Insulin and insulin-like growth factor I enhance regeneration in cultured adult rat sensory neurones. *Brain Research*, 607(1–2), 117–124.
- Ferreira, R., Sena-Evangelista, K., de Azevedo, E. , Pinheiro, F. I., Cobucci, R. N., y Pedrosa, L. F. C. (2021). Selenium in Human Health and Gut Microflora: Bioavailability of Selenocompounds and Relationship With Diseases. *Frontiers in Nutrition*, 8(4), 292–309.
- Ferruzzi, M., y Failla, M. (2001). Assessment of degradation and intestinal cell uptake of carotenoids and chlorophyll derivatives from spinach puree using an in vitro digestion and Caco-2 human cell. *Journal of Agricultural*, 49(4), 2082–2089.
- Ferruzzi, M. G., y Blakeslee, J. (2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research*, 27(1), 1–12.
- Ferruzzi, M. G., Failla, M. L., y Schwartz, S. J. (2001). Assessment of degradation and intestinal cell uptake of carotenoids and chlorophyll derivatives from spinach puree using an invitro digestion and Caco-2 human cell model. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(4), 2082–2089.
- Fibach, E., y Rachmilewitz, E. (2008). The Role of Oxidative Stress in Hemolytic Anemia. *Current Molecular Medicine*, 8(7), 609–619.

- Field, F., y Born, E. (1997). Effect of micellar beta-sitosterol on cholesterol metabolism in CaCo-2 cells. *Journal of Lipid Research*, 38(2), 348–360.
- Fielding, P. E., y Fielding, C. J. (2002). Dynamics of lipoprotein transport in the human circulatory system. *New Comprehensive Biochemistry*, 36(4), 527–552.
- Figueiroa, M., Vieira, J, Leite, D. S., Filho, R., Ferreira, F., Gouveia, P. S., Udrisar, D. P., y Wanderley, M. I. (2009). Green tea polyphenols inhibit testosterone production in rat Leydig cells. *Asian Journal of Andrology*, 11(3), 362–370.
- Finaud, J., Lac, G., y Filaire, E. (2012). Oxidative Stress. *Sports Medicine*, 36(4), 327–358.
- Fink, J., Schoenfeld, B. J., y Nakazato, K. (2017). The role of hormones in muscle hypertrophy. *Journal of Physical and Sport Medicine*, 46(1), 129–134.
- Fitzgerald, C., Gallagher, E., O'Connor, P., Prieto, J., Mora-Soler, L., Grealy, M., y Hayes, M. (2013). Development of a seaweed derived platelet activating factor acetylhydrolase (PAF-AH) inhibitory hydrolysate, synthesis of inhibitory peptides and assessment of their toxicity using the Zebrafish larvae assay. *Peptides*, 50(4), 119–124.
- Flannery, D., Sully, F., Janssens, K., Kalman, J., y La Gerche, A. (2021). Mechanisms of Bradycardia in Athletes: A Case–Control, Blinded, Randomised, Crossover Study. *Heart, Lung and Circulation*, 30(5), 162–172.
- Fletcher, J. R., Esau, S. P., y MacIntosh, B. R. (2009). Economy of running: Beyond the measurement of oxygen uptake. *Journal of Applied Physiology*, 107(6), 1918–1922.
- Foley, C. J., Luo, C., O'Callaghan, K., Hinds, P. W., Covic, L., y Kuliopulos, A. (2012). Matrix metalloprotease-1a promotes tumorigenesis and metastasis. *Journal of Biological Chemistry*, 287(29), 24330–24338.
- Foster, C., y Lucia, A. (2007). Running economy: The forgotten factor in elite performance. *Sports Medicine*, 37(4–5), 316–319.
- Foti, M., Ahmed Moukil, M., Dudognon, P., y Carpentier, J. L. (2008). Insulin and IGF-1 Receptor Trafficking and Signalling. *Biology of IGF-1: Its Interaction with Insulin in Health and Malignant States*, 6(2), 125–147.
- Fournier, C., Rizzoli, R., Bouzakri, K., y Ammann, P. (2016). Selective protein depletion

- impairs bone growth and causes liver fatty infiltration in female rats: prevention by *Spirulina* alga. *Osteoporosis International*, 27(11), 3365–3376.
- Frentzen, M. (2004). Phosphatidylglycerol and sulfoquinovosyldiacylglycerol: anionic membrane lipids and phosphate regulation. *Current Opinion in Plant Biology*, 7(3), 270–276.
- Fried, W. (2009). Erythropoietin and erythropoiesis. *Experimental Hematology*, 37(9), 1007–1015.
- Fryburg, D. A. (1994). Insulin-like growth factor I exerts growth hormone- and insulin-like actions on human muscle protein metabolism. *American Journal Of Physiology*, 267(234), 134–145.
- Fuentes, E., Trostchansky, A., Reguengo, L. M., Junior, M. R. M., y Palomo, I. (2021). Antiplatelet Effects of Bioactive Compounds Present in Tomato Pomace. *Current Drug Targets*, 22(15), 1716–1724.
- Fuhrman, B., Elis, A., y Aviram, M. (1997). Hypocholesterolemic Effect of Lycopene and β -Carotene Is Related to Suppression of Cholesterol Synthesis and Augmentation of LDL Receptor Activity in Macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 233(3), 658–662.
- Furr, H. C., y Clark, R. M. (1997). Intestinal absorption and tissue distribution of carotenoids. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 8(7), 364–377.
- Furtado, M., y Katzman, M. A. (2015). Examining the role of neuroinflammation in major depression. *Psychiatry Research*, 229(1–2), 27–36.
- Gabrielsson, J., y Weiner, D. (2000). *Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis: Concepts and Applications*. Swedish Pharmaceutical Press.
- Gallelli, C. A., Calcagnini, S., Romano, A., Koczwara, J. B., de Ceglia, M., Dante, D., Villani, R., Giudetti, A. M., Cassano, T., y Gaetani, S. (2018). Modulation of the Oxidative Stress and Lipid Peroxidation by Endocannabinoids and Their Lipid Analogues. *Antioxidants*, 7(7), 103.
- Gammone, M. A., Riccioni, G., y D’Orazio, N. (2015). Carotenoids: potential allies of cardiovascular health? *SNF Swedish Nutrition Foundation*, 59(45), 146–178.
- Gammone, M. A., Riccioni, G., Parrinello, G., y D’orazio, N. (2018). Omega-3

- Polyunsaturated Fatty Acids: Benefits and Endpoints in Sport. *Nutrients*, 11(1), 46–57.
- Gani, F., Passalacqua, G., Senna, G., y Frezet, M. M. (2003). Sport, immune system and respiratory infections. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 35(2), 41–46.
- Gao, L., Cao, J., Mao, Q. xia, Lu, X. chun, Zhou, X. liang, y Fan, L. (2013). Influence of omega-3 polyunsaturated fatty acid-supplementation on platelet aggregation in humans: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Atherosclerosis*, 226(2), 328–334.
- García-Vaquero, M., Brunton, N., y Lafarga, T. (2021). Microalgae as a source of pigments for food applications. *Cultured Microalgae for the Food Industry: Current and Potential Applications*, 13(2), 177–198.
- Gardiner, C. M. (2008). Killer cell immunoglobulin-like receptors on NK cells: the how, where and why. *International Journal of Immunogenetics*, 35(1), 1–8.
- Gauthier, M. R., Senhorinho, G., y Scott, J. A. (2020). Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. *Algal Research*, 52(4), 103–113.
- Ghaffari, S. (2010). Oxidative Stress in the Regulation of Normal and Neoplastic Hematopoiesis. *Antioxidants*, 10(11), 1923–1940.
- Ghosh, A. K. (2004). Anaerobic Threshold: Its Concept and Role in Endurance Sport. *The Malaysian Journal of Medical Sciences : MJMS*, 11(1), 45–55.
- Ghoshal, K., y Bhattacharyya, M. (2014). Overview of platelet physiology: Its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *The Scientific World Journal*, 34(7), 145–167.
- Ghyselincks, N. B., y Duester, G. (2019). Retinoic acid signaling pathways. *Development*, 146(13), 145–167.
- Gianotti, L., Ramunni, J., Lanfranco, F., Maccagno, B., Giordano, R., Broglio, F., Maccario, M., Muller, E. E., Ghigo, E., y Arvat, E. (2014). Recombinant human IGF-I does not modify the ACTH and cortisol responses to hCRH and hexarelin, a peptidyl GH secretagogue, in humans. *Journal of Endocrinological Investigation*, 24(2), 67–71.

- Gibson, G. R., Probert, H. M., Loo, J. Van, Rastall, R. A., y Roberfroid, M. B. (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, 17(2), 259–275.
- Gilbert, E. R., Wong, E. A., y Webb, K. E. (2008). Peptide absorption and utilization: Implications for animal nutrition and health. *Journal of Animal Science*, 86(9), 2135–2155.
- Gill, S. S., y Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909–930.
- Gille, A., Hollenbach, R., Trautmann, A., Posten, C., y Briviba, K. (2019). Effect of sonication on bioaccessibility and cellular uptake of carotenoids from preparations of photoautotrophic *Phaeodactylum tricornutum*. *Food Research International*, 118(4), 40–48.
- Gladwin, M. T., y Ofori-Acquah, S. F. (2014). Red Cells, Iron, y Erythropoiesis: Erythroid DAMPs drive inflammation in SCD. *Blood*, 123(24), 368–372.
- Glassner, K., Abraham, B., y Quigley, E. (2020). The microbiome and inflammatory bowel disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 145(1), 16–27.
- Glazier, P. S. (2017). Towards a Grand Unified Theory of sports performance. *Human Movement Science*, 56, 139–156.
- Gleim, G. W., y McHugh, M. P. (2012). Flexibility and Its Effects on Sports Injury and Performance. *Sports Medicine* 1997 24:5, 24(5), 289–299.
- Goiris, K., Muylaert, K., Voorspoels, S., Noten, B., De Paepe, D., E Baart, G. J., y De Cooman, L. (2014). Detection of flavonoids in microalgae from different evolutionary lineages. *Journal of Phycology*, 50(3), 483–492.
- Goldberg, I. J., Scheraldi, C. A., Yacoub, L. K., Saxena, U., y Bisgaier, C. L. (1990). Lipoprotein ApoC-II activation of lipoprotein lipase. Modulation by apolipoprotein A-IV. *Journal of Biological Chemistry*, 265(8), 4266–4272.
- Goldstein, J. L., y Brown, M. S. (2009). The LDL Receptor. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 29(4), 431–438.
- Gomez-Cabrera, M., Viña, J., y Ji, L. (2015). Interplay of Oxidants and Antioxidants

- During Exercise: Implications for Muscle Health. *The Physician and Sports Medicine*, 37(4), 116–123.
- Gómez-Jacinto, V., Navarro-Roldán, F., Garbayo-Nores, I., Vílchez-Lobato, C., Borrego, A. A., y García-Barrera, T. (2020). In vitro selenium bioaccessibility combined with in vivo bioavailability and bioactivity in Se-enriched microalga (*Chlorella sorokiniana*) to be used as functional food. *Journal of Functional Foods*, 66(5), 382–393.
- Gould, D. (2012). Skin flora: implications for nursing. *Nursing Standard*, 26(33), 48–56.
- Gowder Thatha, S. (2015). *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*. InTech.
- Graaf, S. F. J., Bindels, R. J., y Hoenderop, J. G. J. (2007). Physiology of epithelial Ca²⁺ and Mg²⁺ transport. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, 158(4), 77–160.
- Gray, G. M., y Cooper, H. L. (1971). Protein Digestion and Absorption. *Gastroenterology*, 61(4), 535–544.
- Green, D. R. (2022). The Mitochondrial Pathway of Apoptosis Part II: The BCL-2 Protein Family. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 14(6), a041046.
- Gries, A., Bode, C., Peter, K., Herr, A., Böhrer, H., Motsch, J., y Martin, E. (1998). Inhaled Nitric Oxide Inhibits Human Platelet Aggregation, P-Selectin Expression, and Fibrinogen Binding In Vitro and In Vivo. *Circulation*, 97(15), 1481–1487.
- Gruhlke, M., y Slusarenko, A. J. (2012). The biology of reactive sulfur species (RSS). *Plant Physiology and Biochemistry*, 59, 98–107.
- Grune, T., Sommerburg, O., y Siems, W. G. (2000). Oxidative stress in anemia. *Clinical Nephrology*, 53(1), 18–23.
- Grygiel-Górniak, B. (2014). Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: Nutritional and clinical implications - A review. *Nutrition Journal*, 13(1), 1–10.
- Gryglewski, R. J., Botting, R. M., y Vane, J. R. (1988). Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension*, 12(6), 530–548.
- Guan, X., Yan, Q., Wang, D., Du, G., y Zhou, J. (2022a). IGF-1 Signaling Regulates

- Mitochondrial Remodeling during Myogenic Differentiation. *Nutrients* 2022, Vol. 14, Page 1249, 14(6), 1249.
- Guan, X., Yan, Q., Wang, D., Du, G., y Zhou, J. (2022b). IGF-1 Signaling Regulates Mitochondrial Remodeling during Myogenic Differentiation. *Nutrients*, 14(6), 1249–1259.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715.
- Gulec, S., Anderson, G. J., y Collins, J. F. (2014). Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 307(4), 397–409.
- Gunga, H. C., Fries, D., Humpeler, E., Kirsch, K., Boldt, L. E., Koralewski, E., Johannes, B., Klingler, A., Mittermayr, M., Röcker, L., Yaban, B., Behn, C., Jelkmann, W., y Schobersberger, W. (2003). Austrian Moderate Altitude Study (AMAS 2000) – fluid shifts, erythropoiesis, and angiogenesis in patients with metabolic syndrome at moderate altitude ($\cong 1700$ m). *European Journal of Applied Physiology*, 88(6), 497–505.
- Guo, B., Liu, B., Wei, H., Cheng, K. W., y Chen, F. (2019). Extract of the Microalga *Nitzschia laevis* Prevents High-Fat-Diet-Induced Obesity in Mice by Modulating the Composition of Gut Microbiota. *Molecular Nutrition y Food Research*, 63(3), 180–190.
- Guo, W., Bachman, E., Li, M., Roy, C. N., Blusztajn, J., Wong, S., Chan, S. Y., Serra, C., Jasuja, R., Trivison, T. G., Muckenthaler, M. U., Nemeth, E., y Bhasin, S. (2013). Testosterone administration inhibits hepcidin transcription and is associated with increased iron incorporation into red blood cells. *Wiley Online Library*, 12(2), 280–291.
- Gupta, S., Gupta, C., Garg, A., Exp, D. P.-J. M., y 2017, U. (2017). Probiotic efficiency of blue green algae on probiotics microorganisms. *Food Research International*, 4(4), 1–4.
- Gurney, T., Brouner, J., y Spendiff, O. (2021). Twenty-one days of spirulina supplementation lowers heart rate during submaximal cycling and augments power output during repeated sprints in trained cyclists. *Journal of Biotechnology*, 47(1),

18–26.

- Gurney, T., y Spendiff, O. (2020). Spirulina supplementation improves oxygen uptake in arm cycling exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 120(12), 2657–2664.
- Gurney, T., y Spendiff, O. (2022). Algae Supplementation for Exercise Performance: Current Perspectives and Future Directions for Spirulina and Chlorella. *Frontiers in Nutrition*, 9(5), 167–189.
- Guzmán, F., Wong, G., Román, T., Cárdenas, C., Álvarez, C., Schmitt, P., Albericio, F., y Rojas, V. (2019). Identification of Antimicrobial Peptides from the Microalgae *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butcher and Bactericidal Activity Improvement. *Marine Drugs*, 17(8), 463.
- Gyetvai, G., Hughes, T., Wedmore, F., Roe, C., Heikal, L., Ghezzi, P., y Mengozzi, M. (2017). Erythropoietin increases myelination in oligodendrocytes: Gene expression profiling reveals early induction of genes involved in lipid transport and metabolism. *Frontiers in Immunology*, 8(2), 1394–1400.
- Gylling, H., Plat, J., Turley, S., Ginsberg, H. N., Ellegård, L., Jessup, W., Jones, P. J., Lütjohann, D., Maerz, W., Masana, L., Silbernagel, G., Staels, B., Borén, J., Catapano, A. L., De Backer, G., Deanfield, J., Descamps, O. S., Kovanen, P. T., Riccardi, G., ... Chapman, M. J. (2014). Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 232(2), 346–360.
- H. Jannet Saldívar-Santoyo. (2013). El nicho de las células troncales: los secretos de su “código postal.” *Revista de La Facultad de Medicina (México)*, 56(3), 132–142.
- H. Tomkin, G. (2012). LDL as a Cause of Atherosclerosis. *The Open Atherosclerosis y Thrombosis Journal*, 5(1), 13–21.
- Ha, N. H., Faraji, F., y Hunter, K. W. (2013). Mechanisms of metastasis. *Cancer Targeted Drug Delivery: An Elusive Dream*, 23(3), 435–458.
- Ha, S. K., Moon, E., y Kim, S. Y. (2010). Chrysin suppresses LPS-stimulated proinflammatory responses by blocking NF- κ B and JNK activations in microglia cells. *Neuroscience Letters*, 485(3), 143–147.
- Habte-Tsion, H. M., y Kumar, V. (2018). Nonstarch polysaccharide enzymes—general

- aspects. In Elsevier (Ed.), *Enzymes in Human and Animal Nutrition: Principles and Perspectives* (1st ed.). Academic Press.
- Haile, D. W., Durussel, J., Mekonen, W., Ongaro, N., Anjila, E., Mooses, M., Daskalaki, E., Mooses, K., McClure, J. D., Sutehall, S., y Pitsiladis, Y. P. (2019). Effects of EPO on Blood Parameters and Running Performance in Kenyan Athletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *51*(2), 299–307.
- Halim, R., Hosikian, A., Lim, S., y Danquah, M. K. (2010). Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects. *International Journal of Chemical Engineering*, *13*(3), 245–255.
- Halson, S. L., y Jeukendrup, A. E. (2004). Does overtraining exist? An analysis of overreaching and overtraining research. *Sports Medicine*, *34*(14), 967–981.
- Hamarneh, S. R., Murphy, C. A., Shih, C. W., Frontera, W., Torriani, M., Irazoqui, J. E., y Makimura, H. (2015). Relationship Between Serum IGF-1 and Skeletal Muscle IGF-1 mRNA Expression to Phosphocreatine Recovery After Exercise in Obese Men With Reduced GH. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, *100*(2), 617–625.
- Hamedifard, Z., Milajerdi, A., Reiner, Ž., Taghizadeh, M., Kolahdooz, F., y Asemi, Z. (2019). The effects of spirulina on glycemic control and serum lipoproteins in patients with metabolic syndrome and related disorders: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Phytotherapy Research*, *33*(10), 2609–2621.
- Hammarstrom, S., y Falardeau, P. (1977). Resolution of prostaglandin endoperoxide synthase and thromboxane synthase of human platelets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *74*(9), 3691–3695.
- Hammouda, M. B., Ford, A. E., Liu, Y., y Zhang, J. Y. (2020). The JNK Signaling Pathway in Inflammatory Skin Disorders and Cancer. *Cells*, *9*(4), 857–865.
- Han, L., Song, S., Niu, Y., Meng, M., y Wang, C. (2017). Eicosapentaenoic Acid (EPA) Induced Macrophages Activation through GPR120-Mediated Raf-ERK1/2-IKK β -NF- κ B p65 Signaling Pathways. *Nutrients*, *9*(9), 456–471.
- Hans Selye, M. (1946). The general adaptations syndrome and the diseases of adaptation. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, *6*(2), 117–230.

- Haoujar, I., Cacciola, F., Abrini, J., Mangraviti, D., Giuffrida, D., El Majdoub, Y. O., Kounoun, A., Miceli, N., Taviano, M. F., Mondello, L., Rigano, F., y Senhaji, N. S. (2019). The Contribution of Carotenoids, Phenolic Compounds, and Flavonoids to the Antioxidative Properties of Marine Microalgae Isolated from Mediterranean Morocco. *Molecules*, *24*(22), 4056.
- Hasegawa, T., Ito, K., Ueno, S., Kumamoto, S., Ando, Y., Yamada, A., Nomoto, K., y Yasunobu, Y. (1999). Oral administration of hot water extracts of *Chlorella vulgaris* reduces IgE production against milk casein in mice. *International Journal of Immunopharmacology*, *21*(5), 311–323.
- Hashimoto, A., y Kambe, T. (2022). Overview of the zinc absorption mechanism for improving zinc nutrition. *Metallomics Research*, *2*(1), 2.
- Hatton, J., Kryscio, R., Ryan, M., Linda, O., y Young, B. (2006). Systemic metabolic effects of combined insulin-like growth factor–I and growth hormone therapy in patients who have sustained acute traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery*, *105*(6), 843–852.
- Hayashi, O., Ono, S., Ishii, K., Shi, Y. H., Hirahashi, T., y Katoh, T. (2006). Enhancement of proliferation and differentiation in bone marrow hematopoietic cells by *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* in mice. *Journal of Applied Phycology*, *18*(1), 47–56.
- Hayes, K. C., Khosla, P., Hajri, T., y Pronczuk, A. (1997). Saturated fatty acids and LDL receptor modulation in humans and monkeys. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, *57*(4–5), 411–418.
- He, X., Wang, H., Jin, T., Xu, Y., Mei, L., y Yang, J. (2016). TLR4 Activation Promotes Bone Marrow MSC Proliferation and Osteogenic Differentiation via Wnt3a and Wnt5a Signaling. *Plos One*, *11*(3), 123–140.
- He, Y., Hu, Y., Jiang, X., Chen, T., Ma, Y., Wu, S., Sun, J., Jiao, R., Li, X., Deng, L., y Bai, W. (2017). Cyanidin-3-O-glucoside inhibits the UVB-induced ROS/COX-2 pathway in HaCaT cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *177*, 24–31.
- Heath, E. I., y Grochow, L. B. (2000). Clinical potential of matrix metalloprotease inhibitors in cancer therapy. *Drugs*, *59*(5), 1043–1055.

- Hedelin, R., Kentta, G., Wiklund, U., Bjerle, P., y Henriksson-Larsen, K. (2000). Short-term overtraining: effects on performance, circulatory responses, and heart rate variability. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 32(8), 1480–1484.
- Helmer, A., Slater, N., y Smithgall, S. (2018). A Review of ACE Inhibitors and ARBs in Black Patients With Hypertension. *Annals of Pharmacotherapy*, 52(11), 1143–1151.
- Hennigar, S. R., y McClung, J. P. (2016). Hepcidin Attenuates Zinc Efflux in Caco-2 Cells. *The Journal of Nutrition*, 146(11), 2167–2173.
- Heo, M. G., y Choung, S. Y. (2018). Anti-obesity effects of *Spirulina maxima* in high fat diet induced obese rats via the activation of AMPK pathway and SIRT1. *Food y Function*, 9(9), 4906–4915.
- Heo, S. J., y Jeon, Y. J. (2008). Radical scavenging capacity and cytoprotective effect of enzymatic digests of *Ishige okamurae*. *Journal of Applied Phycology*, 20(6), 1087–1095.
- Hernández-Lepe, M. A., López-Díaz, J. A., Juárez-Oropeza, M. A., Hernández-Torres, R. P., Wall-Medrano, A., y Ramos-Jiménez, A. (2018). Effect of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* Supplementation and a Systematic Physical Exercise Program on the Body Composition and Cardiorespiratory Fitness of Overweight or Obese Subjects: A Double-Blind, Randomized, and Crossover Controlled Trial. *Marine Drugs*, 16(10), 364.
- Hernández-Lepe, M. A., Wall-Medrano, A., López-Díaz, J. A., Juárez-Oropeza, M. A., Luqueño-Bocardo, O. I., Hernández-Torres, R. P., y Ramos-Jiménez, A. (2019). Hypolipidemic Effect of *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* Supplementation and a Systematic Physical Exercise Program in Overweight and Obese Men: A Double-Blind, Randomized, and Crossover Controlled Trial. *Marine Drugs*, 17(5), 180–187.
- Herrington, S. (2014). *Muir's Textbook of Pathology*. CRC Press.
- Higashida, K., Kim, S. H., Higuchi, M., Holloszy, J. O., y Han, D. H. (2011). Normal adaptations to exercise despite protection against oxidative stress. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 301(5), 779–784.
- Hill, M., Wernig, A., y Goldspink, G. (2003). Muscle satellite (stem) cell activation during local tissue injury and repair. *Journal of Anatomy*, 203(1), 89–99.

- Hille, U. E., Zimmer, C., Vock, C. A., y Hartmann, R. W. (2011). First selective CYP11B1 inhibitors for the treatment of cortisol-dependent diseases. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 2(1), 2–6.
- Hiller-Sturmhöfel, S., y Bartke, A. (1998). The Endocrine System: An Overview. *Alcohol Health and Research World*, 22(3), 167–169.
- Ho, M., Medcalf, R. L., Livesey, S. A., y Traianedes, K. (2015). The dynamics of adult haematopoiesis in the bone and bone marrow environment. *British Journal of Haematology*, 170(4), 472–486.
- Hobbs, C. J., Plymate, S. R., Rosen, C. J., y Adler, R. A. (1993). Testosterone administration increases insulin-like growth factor-I levels in normal men. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, 77(3), 776–779.
- Hoff, J., Gran, A., y Helgerud, J. (2002). Maximal strength training improves aerobic endurance performance. *Scandinavian Journal of Medicine y Science in Sports*, 12(5), 288–295.
- Hoffbrand, A., y Steensma, D. (2020). *Hoffbrand's Essential Haematology*. Wiley Blac.
- Hoier, B., y Hellsten, Y. (2014). Exercise-Induced Capillary Growth in Human Skeletal Muscle and the Dynamics of VEGF. *Microcirculation*, 21(4), 301–314.
- Holloszy, J. O. (1975). Adaptation of skeletal muscle to endurance exercise. *Medicine and Science in Sports*, 7(3), 155–164.
- Holloszy, J. O., y Coyle, E. F. (1984). Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *Medicine and Science in Sports*, 56(4), 831–838.
- Hood, D. A., Irrcher, I., Ljubicic, V., y Joseph, A. M. (2006). Coordination of metabolic plasticity in skeletal muscle. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2265–2275.
- Hori, T., Norris, R. E., y Chihara, M. (1982). Studies on the ultrastructure and taxonomy of the genus *Tetraselmis* (Prasinophyceae). *The Botanical Magazine*, 95(1), 49–61.
- Hosseini, A. M., Keshavarz, S. A., Nasli-Esfahani, E., Amiri, F., y Janani, L. (2021). The effects of *Chlorella* supplementation on glycemic control, lipid profile and anthropometric measures on patients with type 2 diabetes mellitus. *European Journal of Nutrition*, 60(6), 3131–3141.

- Hotte, N., Salim, S. Y., Tso, R. H., Albert, E. J., Bach, P., Walker, J., Dieleman, L. A., Fedorak, R. N., y Madsen, K. L. (2012). Patients with Inflammatory Bowel Disease Exhibit Dysregulated Responses to Microbial DNA. *Plos One*, 7(5), 678–688.
- Hou, W., Chen, H., y Food, Y. L. (2003). Antioxidant peptides with angiotensin converting enzyme inhibitory activities and applications for angiotensin converting enzyme purification. *Journal of Agricultural* , 51(6), 1706–1709.
- Hsu, H. Y., Jeyashoke, N., Yeh, C. H., Song, Y. J., Hua, K. F., y Chao, L. K. (2010). Immunostimulatory bioactivity of algal polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* activates macrophages via toll-like receptor 4. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 927–936.
- Hu, J. (1994). Effect of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* on erythropoiesis in mice | Chinese Journal of Marine Drugs;(6)1994. | WPRIM. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 4(6), 136–150.
- Huang, J., y Manning, B. D. (2009). A complex interplay between Akt, TSC2 and the two mTOR complexes. *Biochemical Society Transactions*, 37(1), 217–222.
- Huang, L., Shen, M. y Morris, G. (2019). Sulfated polysaccharides: Immunomodulation and signaling mechanisms. *Elsevier*, 14(2), 145–155.
- Hurley, L. L., y Tizabi, Y. (2013). Neuroinflammation, neurodegeneration, and depression. *Neurotoxicity Research*, 23(2), 131–144.
- Hussein, G., Sankawa, U., Goto, H., Matsumoto, K., y Watanabe, H. (2006). Astaxanthin, a Carotenoid with Potential in Human Health and Nutrition 1. *Journal of Natural Products*, 14(56), 134–178.
- Iaccarino, G., Franco, D., Sorriento, D., Strisciuglio, T., Barbato, E., y Morisco, C. (2020). Modulation of Insulin Sensitivity by Exercise Training: Implications for Cardiovascular Prevention. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, 14(2), 256–270.
- Ibrahim, I. A., Shalaby, A. A., Abd Elaziz, R. T., y Bahr, H. I. (2021). *Chlorella vulgaris* or *Spirulina platensis* mitigate lead acetate-induced testicular oxidative stress and apoptosis with regard to androgen receptor expression in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(29), 39126–39138.
- Ighodaro, O. M., y Akinloye, O. A. (2018). First line defence antioxidants-superoxide

- dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(4), 287–293.
- Inagaki, T., Lin, V. Y., Goetz, R., Mohammadi, M., Mangelsdorf, D. J., y Kliewer, S. A. (2008). Inhibition of growth hormone signaling by the fasting-induced hormone FGF21. *Cell Metabolism*, 8(1), 77–83.
- Indumathi, P., y Mehta, A. (2016). A novel anticoagulant peptide from the Nori hydrolysate. *Journal of Functional Foods*, 20(7), 606–617.
- Inoki, K., Li, Y., Zhu, T., Wu, J., y Guan, K. L. (2002). TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nature Cell Biology* 2002 4:9, 4(9), 648–657.
- Irrcher, I., Adhietty, P. J., Joseph, A. M., Ljubicic, V., y Hood, D. A. (2003). Regulation of mitochondrial biogenesis in muscle by endurance exercise. *Sports Medicine*, 33(11), 783–793.
- Jaafar, F., Durani, L. W., y Makpol, S. (2020). *Chlorella vulgaris* modulates the expression of senescence-associated genes in replicative senescence of human diploid fibroblasts. *Molecular Biology Reports*, 47(1), 369–379.
- Wilmore, J. y Costill, L. (2015). *Fisiología Del Esfuerzo Y Del Deporte* (6th ed.). Paidotribo.
- Jacob-Lopes, E., Maroneze, M. M., Deprá, M. C., Sartori, R. B., Dias, R. R., y Zepka, L. Q. (2019). Bioactive food compounds from microalgae: an innovative framework on industrial biorefineries. *Current Opinion in Food Science*, 25, 1–7.
- Jacob-Lopes, E., y Queiroz, M. (2020). *Pigments from Microalgae Handbook*. Springer.
- Jakob, U., y Reichmann, D. (2013). *Oxidative Stress and Redox Regulation* (U. Jakob (ed.)). Springer.
- Jalal, F., Nesheim, M. C., Agus, Z., Sanjur, D., y Habicht, J. P. (1998). Serum retinol concentrations in children are affected by food sources of beta-carotene, fat intake, and anthelmintic drug treatment. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68(3), 623–629.
- Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., y Reddy,

- D. N. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*, 21(29), 8836–8847.
- Jelkmann, W. (2016). Erythropoietin. *Frontiers of Hormone Research*, 47(2), 115–127.
- Jensen-Urstad, K., Saltin, B., Ericson, M., Storck, N., y Jensen-Urstad, M. (1997). Pronounced resting bradycardia in male elite runners is associated with high heart rate variability. *Scandinavian Journal of Medicine y Science in Sports*, 7(5), 274–278.
- Jensen, G. S., Drapeau, C., Lenninger, M., y Benson, K. F. (2016). Clinical Safety of a High Dose of Phycocyanin-Enriched Aqueous Extract from *Arthrospira* (*Spirulina*) platensis: Results from a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study with a Focus on Anticoagulant Activity and Platelet Activation. *Journal of Medicinal Food*, 19(7), 645–653.
- Jiang, C., Li, G., Huang, P., Liu, Z., y Zhao, B. (2017). The Gut Microbiota and Alzheimer's Disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 58(1), 1–15.
- Jiang, Q., Chen, Q., Zhang, T., Liu, M., Duan, S., y Sun, X. (2021a). The Antihypertensive Effects and Potential Molecular Mechanism of Microalgal Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitor-Like Peptides: A Mini Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 4068–4070.
- Jiang, Q., Chen, Q., Zhang, T., Liu, M., Duan, S., y Sun, X. (2021b). The Antihypertensive Effects and Potential Molecular Mechanism of Microalgal Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitor-Like Peptides: A Mini Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(8), 4080–4090.
- Jiang, X., Wang, G., Lin, Q., Tang, Z., Yan, Q., y Yu, X. (2019). Fucoxanthin prevents lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior in mice via AMPK- NF- κ B pathway. *Metabolic Brain Disease*, 34(2), 431–442.
- Jing, J., Ding, N., Wang, D., Ge, X., Ma, J., Ma, R., Huang, X., Jueraitetibaik, K., Liang, K., Wang, S., Cao, S., Zhao, A. Z., y Yao, B. (2020). Oxidized-LDL inhibits testosterone biosynthesis by affecting mitochondrial function and the p38 MAPK/COX-2 signaling pathway in Leydig cells. *Cell Death y Disease* 2020 11:8, 11(8), 1–15.
- Johnson, C. A. (2000). Use of androgens in patients with renal failure. *Seminars in*

Dialysis, 13(1), 36–39.

- Johnson, E. J., Vishwanathan, R., Johnson, M. A., Hausman, D. B., Davey, A., Scott, T. M., Green, R. C., Miller, L. S., Gearing, M., Woodard, J., Nelson, P. T., Chung, H. Y., Schalch, W., Wittwer, J., y Poon, L. W. (2013). Relationship between serum and brain carotenoids, α -tocopherol, and retinol concentrations and cognitive performance in the oldest old from the Georgia Centenarian Study. *Journal of Aging Research*, 20(34), 1456–1667.
- De La Rosa, B., Rodríguez-Bies, E. C., Javier, C., Rojano Ortega, D., Eleazar, L., Padilla, B., De, L. A., Rosa, F. J. ;, Rodríguez-Bies, E. C. ; B. D. La, Rosa, C. J. ;, Rojano Ortega, D., Padilla, L., y Comparación, E. (2010). Comparación de Ecuaciones Antropométricas para Evaluar la Masa Muscular en Jugadores de Badminton. *International Journal of Morphology*, 28(3), 803–810.
- Joseph, C., Nota, C., Fletcher, J. L., Maluenda, A. C., Green, A. C., y Purton, L. E. (2016). Retinoic Acid Receptor γ Regulates B and T Lymphopoiesis via Nestin-Expressing Cells in the Bone Marrow and Thymic Microenvironments. *The Journal of Immunology*, 196(5), 2132–2144.
- Joyner, M. J., y Coyle, E. F. (2008). Endurance exercise performance: the physiology of champions. *The Journal of Physiology*, 586(1), 35–44.
- Júnior, R. S., Reis, V. M., y Leite, T. (2011). Influence of the Number of Sets at a Strength Training in the Flexibility Gains. *Journal of Human Kinetics*, 29A(Special Issue), 56–62.
- Kadi, F. (2008). Cellular and molecular mechanisms responsible for the action of testosterone on human skeletal muscle. A basis for illegal performance enhancement. *British Journal of Pharmacology*, 154(3), 522–528.
- Kalinowska, R., y Pawlik-Skowrońska, B. (2010). Response of two terrestrial green microalgae (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) isolated from Cu-rich and unpolluted soils to copper stress. *Environmental Pollution*, 158(8), 2778–2785.
- Kalita, P., Ahmed, A. B., Sen, S., y Chakraborty, R. (2022). A comprehensive review on polysaccharides with hypolipidemic activity: Occurrence, chemistry and molecular mechanism. *International Journal of Biological Macromolecules*, 206(56), 681–698.

- Kamanga-sollo, E., Pampusch, M., White, M., Hathaway, M., y Dayton, W. (2004). IGF-I mRNA levels in bovine satellite cell cultures: Effects of fusion and anabolic steroid treatment. *Wiley Online Library*, 201(2), 181–189.
- Kambe, T., Tsuji, T., Hashimoto, A., y Itsumura, N. (2015). The physiological, biochemical, and molecular roles of zinc transporters in zinc homeostasis and metabolism. *Physiological Reviews*, 95(3), 749–784.
- Kanematsu, S., Iriguchi, N., y Ienaga, A. (2010). Characterization of CuZn-superoxide dismutase gene from the green alga *Spirogyra* sp. (Streptophyta): Evolutionary implications for the origin of the chloroplastic and cytosolic isoforms. *Algae Research*, 12(2), 234–256.
- Kang, P., Wang, Y., Li, X., Wan, Z., Wang, X., Zhu, H., Wang, C., Zhao, S., Chen, H., y Liu, Y. (2020). Effect of flaxseed oil on muscle protein loss and carbohydrate oxidation impairment in a pig model after lipopolysaccharide challenge. *British Journal of Nutrition*, 123(8), 859–869.
- Karawita, R., Senevirathne, M., Athukorala, Y., Affan, A., Lee, Y. J., Kim, S. K., Lee, J. B., y Jeon, Y. J. (2007). Protective effect of enzymatic extracts from microalgae against DNA damage induced by H₂O₂. *Marine Biotechnology*, 9(4), 479–490.
- Karsten, B., Stevens, L., Colpus, M., Larumbe-Zabala, E., y Naclerio, F. (2016). The Effects of Sport-Specific Maximal Strength and Conditioning Training on Critical Velocity, Anaerobic Running Distance, and 5-km Race Performance. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 11(1), 80–85.
- Kattoor, A. J., Kanuri, S. H., y Mehta, J. L. (2018). Role of Ox-LDL and LOX-1 in Atherogenesis. *Current Medicinal Chemistry*, 26(9), 1693–1700.
- Kaushal, N., Hegde, S., Lumadue, J., Paulson, R. F., y Prabhu, K. S. (2011). The Regulation of Erythropoiesis by Selenium in Mice. *Antioxidants y Redox Signaling*, 14(8), 1412–1423.
- Kelkar, G., Subhadra, K., y Chengappa, R. K. (2017). Effect of Antioxidant Supplementation on Hematological Parameters, Oxidative Stress and Performance of Indian Athletes. *Kamla Raj Enterprises*, 24(3), 209–213.
- Kellis, J. T., y Vickery, L. E. (1984). Inhibition of human estrogen synthetase (aromatase) by flavones. *Science*, 225(4666), 1032–1034.

- Khan, S., Minihane, A. M., Talmud, P. J., Wright, J. W., Murphy, M. C., Williams, C. M., y Griffin, B. A. (2002). Dietary long-chain n-3 PUFAs increase LPL gene expression in adipose tissue of subjects with an atherogenic lipoprotein phenotype. *Journal of Lipid Research*, 43(6), 979–985.
- Khanna, S., y Raffals, L. E. (2017). The Microbiome in Crohn's Disease: Role in Pathogenesis and Role of Microbiome Replacement Therapies. *Gastroenterology Clinics of North America*, 46(3), 481–492.
- Kiela, P. R., y Ghishan, F. K. (2016). Physiology of Intestinal Absorption and Secretion. *Best Practice y Research Clinical Gastroenterology*, 30(2), 145–159.
- Kiela, P. R., Xu, H., y Ghishan, F. K. (2006). Apical NA⁺/H⁺ exchangers in the mammalian gastrointestinal tract. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 57(7), 51–79.
- Kim, H. W., Chew, B. P., Wong, T. S., Park, J. S., Weng, B. B. C., Byrne, K. M., Hayek, M. G., y Reinhart, G. A. (2000). Dietary lutein stimulates immune response in the canine. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 74(3–4), 315–327.
- Kim, S. K., y Kang, K. H. (2011). Medicinal Effects of Peptides from Marine Microalgae. *Advances in Food and Nutrition Research*, 64(3), 313–323.
- Kim, Y.-K., y Jeon, S. W. (2018). Neuroinflammation and the Immune-Kynurenine Pathway in Anxiety Disorders. *Current Neuropharmacology*, 16(5), 574–582.
- Kindermann, W., Simon, G., y Keul, J. (1979). The significance of the aerobic-anaerobic transition for the determination of work load intensities during endurance training. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 42(1), 25–34.
- Kiokias, S., y Gordon, M. H. (2003). Dietary supplementation with a natural carotenoid mixture decreases oxidative stress. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(9), 1135–1140.
- Kiokias, S., Proestos, C., y Oreopoulou, V. (2018). Effect of Natural Food Antioxidants against LDL and DNA Oxidative Changes. *Antioxidants*, 7(10), 156.
- Kitajima, Y., Yoshioka, K., y Suzuki, N. (2020). The ubiquitin-proteasome system in regulation of the skeletal muscle homeostasis and atrophy: From basic science to disorders. *Journal of Physiological Sciences*, 70(1), 1–12.

- Klaunig, J. E., y Wang, Z. (2018). Oxidative stress in carcinogenesis. *Current Opinion in Toxicology*, 7(2), 116–121.
- Klingel, S. L., Metherel, A. H., Irfan, M., Rajna, A., Chabowski, A., Bazinet, R. P., y Mutch, D. M. (2019). EPA and DHA have divergent effects on serum triglycerides and lipogenesis, but similar effects on lipoprotein lipase activity: a randomized controlled trial. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 110(6), 1502–1509.
- Klotz, L. O., Sánchez-Ramos, C., Prieto-Arroyo, I., Urbánek, P., Steinbrenner, H., y Monsalve, M. (2015). Redox regulation of FoxO transcription factors. *Redox Biology*, 6(2), 51–72.
- Klusiewicz, A. (2011). Prediction of maximal oxygen uptake from submaximal and maximal exercise on a ski ergometer. *Biology of Sport*, 28(1), 123–140.
- Ko, S. C., Heo, S. Y., Choi, S. W., Qian, Z. J., Heo, S. J., Kang, D. H., Kim, N., y Jung, W. K. (2018). A heptameric peptide isolated from the marine microalga *Pavlova lutheri* suppresses PMA-induced secretion of matrix metalloproteinase-9 through the inactivation of the JNK, p38, and NF- κ B pathways in human fibrosarcoma cells. *Journal of Applied Phycology*, 30(4), 2367–2378.
- Koch, T., y Höllt, V. (2008). Role of receptor internalization in opioid tolerance and dependence. *Pharmacology y Therapeutics*, 117(2), 199–206.
- Komi, P. V., Rusko, H., Vos, J., y Vihko, V. (1977). Anaerobic Performance Capacity in Athletes. *Acta Physiologica Scandinavica*, 100(1), 107–114.
- Komin, A., Russell, L. M., Hristova, K. A., y Searson, P. C. (2017). Peptide-based strategies for enhanced cell uptake, transcellular transport, and circulation: Mechanisms and challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 15(2), 52–64.
- Konishi, Y., Chui, D. H., Hirose, H., Kunishita, T., y Tabira, T. (1993). Trophic effect of erythropoietin and other hematopoietic factors on central cholinergic neurons in vitro and in vivo. *Brain Research*, 609(1–2), 29–35.
- Kooijman, R., Scholtens, L. E., Rijkers, G. T., y Zegers, B. J. M. (1995). Type I insulin-like growth factor receptor expression in different developmental stages of human thymocytes. *Journal of Endocrinology*, 147(2), 203–209.
- Kopchick, J. J., Berryman, D. E., Puri, V., Lee, K. Y., y Jorgensen, J. O. L. (2019). The effects of growth hormone on adipose tissue: old observations, new mechanisms.

Nature Reviews Endocrinology 2019 16:3, 16(3), 135–146.

- Kosalko, A. A. ; ;, Robinson, D. ;, Saiani, A. ;, Reid, A. J., Mcmorrow, L. A., Kosalko, A., Robinson, D., Saiani, A., y Reid, A. J. (2022). Advancing Our Understanding of the Chronically Denervated Schwann Cell: A Potential Therapeutic Target? *Biomolecules* , 12(8), 1138.
- Koukouraki, P., Tsoupras, A., Sotiroudis, G., Demopoulos, C. A., y Sotiroudis, T. G. (2020). Antithrombotic properties of Spirulina extracts against platelet-activating factor and thrombin. *Food Bioscience*, 37(2), 657–667.
- Koyande, A. K., Chew, K. W., Rambabu, K., Tao, Y., Chu, D. T., y Show, P. L. (2019). Microalgae: A potential alternative to health supplementation for humans. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), 16–24.
- Kraemer, J. W., y Hakkinen Keijo. (2000). *The Handbooks of Sports Medicine and Science: Strength Training for Sport*. Blackwell science.
- Krafczyk, N., y Klotz, L. O. (2022). FOXO transcription factors in antioxidant defense. *Journals IUBMB*, 74(1), 53–61.
- Krieg, A. M. (2006a). Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nature Reviews Drug Discovery* 2006 5:6, 5(6), 471–484.
- Krieg, A. M. (2006b). Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nature Reviews Drug Discovery* , 5(9), 471–484.
- Krieg, M., Haas, R., Brauch, H., Acker, T., Flamme, I., y Plate, K. H. (2000). Up-regulation of hypoxia-inducible factors HIF-1 α and HIF-2 α under normoxic conditions in renal carcinoma cells by von Hippel-Lindau tumor suppressor gene loss of function. *Oncogene*, 19(48), 5435–5443.
- Krysiak, R., Handzlik-Orlik, G., y Okopien, B. (2012). The role of adipokines in connective tissue diseases. *European Journal of Nutrition* , 51(5), 513–528.
- Kwak, J. H., Baek, S. H., Woo, Y., Han, J. K., Kim, B. G., Kim, O. Y., y Lee, J. H. (2012). Beneficial immunostimulatory effect of short-term Chlorella supplementation: Enhancement of Natural Killer cell activity and early inflammatory response (Randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). *Nutrition Journal*, 11(1), 1–8.

- Kwak, Y. D., Wang, B., Li, J. J., Wang, R., Deng, Q., Diao, S., Chen, Y., Xu, R., Masliah, E., Xu, H., Sung, J. J., y Liao, F. F. (2012). Upregulation of the E3 ligase NEDD4-1 by Oxidative Stress Degrades IGF-1 Receptor Protein in Neurodegeneration. *Journal of Neuroscience*, 32(32), 10971–10981.
- Kwang, H. C., Song, Y. I. K., y Lee, D. U. (2008). Antiproliferative effects of carotenoids extracted from *Chlorella ellipsoidea* and *Chlorella vulgaris* on human colon cancer cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10521–10526.
- Kwiterovich, P. O. (2000). The metabolic pathways of high-density lipoprotein, low-density lipoprotein, and triglycerides: a current review. *The American Journal of Cardiology*, 86(12), 5–10.
- Lamm, M. E., Nedrud, J. G., Kaetzel, C. S., y Mazanec, M. B. (1995). IgA and mucosal defense. *APMIS*, 103(16), 241–246.
- Landrier, J., Marcotorchino, J., Nutrients, F. T., y 2012, U. (2012). Lipophilic micronutrients and adipose tissue biology. *Nutrients*, 4(11), 1622–1649.
- Laurino, L., Wang, X. X., de la Houssaye, B. A., Sosa, L., Dupraz, S., Cáceres, A., Pfenninger, K. H., y Quiroga, S. (2005). PI3K activation by IGF-1 is essential for the regulation of membrane expansion at the nerve growth cone. *Journal of Cell Science*, 118(16), 3653–3662.
- Lavery, G. G., Walker, E. A., Draper, N., Jeyasuria, P., Marcos, J., Shackleton, C. H. L., Parker, K. L., White, P. C., y Stewart, P. M. (2006). Hexose-6-phosphate dehydrogenase knock-out mice lack 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1-mediated glucocorticoid generation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(10), 6546–6551.
- Le Roy, C., Li, J. Y., Stocco, D. M., Langlois, D., y Saez, J. M. (2000). Regulation by Adrenocorticotropin (ACTH), Angiotensin II, Transforming Growth Factor- β , and Insulin-Like Growth Factor I of Bovine Adrenal Cell Steroidogenic Capacity and Expression of ACTH Receptor, Steroidogenic Acute Regulatory Protein, Cytochrome P450c17, and 3 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase. *Endocrinology*, 141(5), 1599–1607.
- Lee, H. S., Park, H. J., y Kim, M. K. (2008). Effect of *Chlorella vulgaris* on lipid metabolism in Wistar rats fed high fat diet. *Nutrition Research and Practice*, 2(4),

204–210.

- Lee, J.-Y., Seo, J. M., Nguyen, A., Pham, T., Yang, Y., Bruno, R. S., y Park, Y.-K. (2011). Hypolipidemic and anti-oxidant properties of astaxanthin-rich extract from *Haematococcus pluvialis* in apolipoprotein E knockout mice. *The FASEB Journal*, 25(S1), 224.3-224.3.
- Lee, J., y Zhang, X. L. (2021). Physiological determinants of VO₂max and the methods to evaluate it: A critical review. *Science y Sports*, 36(4), 259–271.
- Lee, M. K., Choi, J. W., Choi, Y. H., y Nam, T. J. (2019). Protective Effect of *Pyropia yezoensis* Peptide on Dexamethasone-Induced Myotube Atrophy in C2C12 Myotubes. *Marine Drugs*, 17(5), 284–294.
- Lee, M. K., Kim, Y. M., Kim, I. H., Choi, Y. H., y Nam, T. J. (2017). *Pyropia yezoensis* peptide PYP1-5 protects against dexamethasone-induced muscle atrophy through the downregulation of atrogin1/MAFbx and MuRF1 in mouse C2C12 myotubes. *Molecular Medicine Reports*, 15(6), 3507–3514.
- Lee, P. H., Macfarlane, D. J., Lam, T. H., y Stewart, S. M. (2011). Validity of the international physical activity questionnaire short form (IPAQ-SF): A systematic review. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 8.
- Lee, A. V., You, L., Oh, S. Y., Li, Z., Code, A., Zhu, C., Fisher-Heffernan, R. E., Regnault, T., Lange, C., Huber, L. A., y Karrow, N. A. (2019). Health benefits of supplementing nursery pig diets with microalgae or fish oil. *Animals*, 9(3), 80–91.
- Lefterova, M. I., y Lazar, M. A. (2009). New developments in adipogenesis. *Trends in Endocrinology y Metabolism*, 20(3), 107–114.
- Léger, B., Vergani, L., Sorarù, G., Hespel, P., Derave, W., Gobelet, C., Ascenzio, C. D., Angelini, C., y Russell, A. P. (2006). Human skeletal muscle atrophy in amyotrophic lateral sclerosis reveals a reduction in Akt and an increase in atrogin-1. *The FASEB Journal*, 20(3), 583–585.
- Lehmann, M. J., Lormes, W., Opitz-Gress, A., Steinacker, J. M., Netzer, N., Foster, C., y Gastmann, U. (1997). Training and overtraining: an overview and experimental results in endurance sports. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 37(1), 7–17.
- Lehninger D., Nelson, D., Cox, M., y Stiedemann, L. (2000). *Lehninger principles of*

- biochemistry*. Macmillan.
- Lellouche, F., Martinuzzo, M., Said, P., Maclouf, J., y Carreras, L. O. (1991). Imbalance of thromboxane/prostacyclin biosynthesis in patients with lupus anticoagulant. *Blood*, 78(11), 2894–2899.
- Leonard, J. V., y Morris, A. (2002). Urea cycle disorders. *Seminars in Neonatology*, 7(1), 27–35.
- Leung, P. S. (2005). The Peptide Hormone Angiotensin II: Its New Functions in Tissues and Organs. *Current Protein y Peptide Science*, 5(4), 267–273.
- Levine, I., y Fleurence, J. (2018). *Microalgae in Health and Disease Prevention* (2nd ed.). Academic Press.
- Lewis, M. P. (2012). Androgens Affect Myogenesis in vitro and Increase Local IGF-1 Expression. *The Official Journal of American College of Sport Medicine*, 14(5), 145–168.
- Li, D., Saldeen, T., y Mehta, J. L. (1999). γ -Tocopherol Decreases Ox-LDL-Mediated Activation of Nuclear Factor- κ B and Apoptosis in Human Coronary Artery Endothelial Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 259(1), 157–161.
- Li, J., y Convertino, M. (2019). Optimal microbiome networks: Macroecology and criticality. *Entropy*, 21(5), 15–25.
- Li, Q., Zhang, Q., Wang, M., Zhao, S., Ma, J., Luo, N., Li, N., Li, Y., Xu, G., y Li, J. (2007). Eicosapentaenoic acid modifies lipid composition in caveolae and induces translocation of endothelial nitric oxide synthase. *Biochimie*, 89(1), 169–177.
- Li, X., Guo, J., Jiang, X., Sun, J., Tian, L., Jiao, R., Tang, Y., y Bai, W. (2019). Cyanidin-3-O-glucoside protects against cadmium-induced dysfunction of sex hormone secretion via the regulation of hypothalamus-pituitary-gonadal axis in male pubertal mice. *Food and Chemical Toxicology*, 129, 13–21.
- Li, X., Xin, Y., Mo, Y., Marozik, P., He, T., y Guo, H. (2022). The Bioavailability and Biological Activities of Phytosterols as Modulators of Cholesterol Metabolism. *Molecules*, 27(2), 523–533.
- Lifsey, H. C., Kaur, R., Thompson, B. H., Bennett, L., Temel, R. E., y Graf, G. A. (2020).

- Stigmasterol stimulates transintestinal cholesterol excretion independent of liver X receptor activation in the small intestine. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 76(14), 234–263.
- Liguori, I., Russo, G., Curcio, F., Bulli, G., Aran, L., Della-Morte, D., Gargiulo, G., Testa, G., Cacciatore, F., Bonaduce, D., y Abete, P. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging*, 13(2), 770–777.
- Lin, K. H., Lin, K. C., Lu, W. J., Thomas, P. A., Jayakumar, T., y Sheu, J. R. (2015). Astaxanthin, a Carotenoid, Stimulates Immune Responses by Enhancing IFN- γ and IL-2 Secretion in Primary Cultured Lymphocytes in Vitro and ex Vivo. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1), 55–67.
- Lin, P. Y., Tsai, C. T., Chuang, W. L., Chao, Y. H., Pan, I. H., Chen, Y. K., Lin, C. C., y Wang, B. Y. (2017). *Chlorella sorokiniana* induces mitochondrial-mediated apoptosis in human non-small cell lung cancer cells and inhibits xenograft tumor growth in vivo. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 1–8.
- Lisowska, K. A., Dębska-Ślizień, A., Bryl, E., Rutkowski, B., y Witkowski, J. M. (2010). Erythropoietin Receptor Is Expressed on Human Peripheral Blood T and B Lymphocytes and Monocytes and Is Modulated by Recombinant Human Erythropoietin Treatment. *Artificial Organs*, 34(8), 654–662.
- Liu, Y. J., Nakagawa, Y., Nasuda, K., Saegusa, H., y Igarashi, Y. (1996). Effect of growth hormone, insulin and dexamethasone on 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase activity on a primary culture of rat hepatocytes. *Life Sciences*, 59(3), 227–234.
- Lombardero, M., Kovacs, K., y Scheithauer, B. W. (2011). Erythropoietin: A Hormone with Multiple Functions. *Pathobiology*, 78(1), 41–53.
- Long, E. K., y Picklo, M. J. (2010). Trans-4-hydroxy-2-hexenal, a product of n-3 fatty acid peroxidation: Make some room HNE. *Free Radical Biology and Medicine*, 49(1), 1–8.
- Longo, N., Amat Di San Filippo, C., y Pasquali, M. (2006). Disorders of carnitine transport and the carnitine cycle. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics*, 142C(2), 77–85.
- López-Seoane, J., Jiménez, S. L., Del Coso, J., y Pareja-Galeano, H. (2022). Muscle hypertrophy induced by N-3 PUFA supplementation in absence of exercise: a

- systematic review of randomized controlled trials. *Journal of Nutritional Science*, 13(5), 678–688.
- López-Seoane, J., Martínez-Ferran, M., Romero-Morales, C., y Pareja-Galeano, H. (2021). N-3 PUFA as an ergogenic supplement modulating muscle hypertrophy and strength: a systematic review. *Journal of Nutritional Science*, 23(56), 45–78.
- López, E. (2007). *Pruebas de aptitud física* (Vol. 24). Paidotribo.
- Low, S. C., Chapman, K. E., Edwards, C. R. W., Wells, T., Robinson, I. C. A. F., y Seckl, J. R. (1994). Sexual dimorphism of hepatic 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase in the rat: the role of growth hormone patterns. *Journal of Endocrinology*, 143(3), 541–548.
- Lozano, J. A., Galindo, J. D., García Borrón, J. H., Peñafiel, R., y Solano, F. (2005). *Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud*. (3rd ed.). Mc Graw Hill.
- Lu, J. X., Zheng, Z. G., Xu, Z. M., Yang, H., y Li, P. (2019). Advances in research on hypolipidemic mechanism of phytosterols. *China Journal of Chinese Materia Medica.*, 44(21), 4552–4559.
- Lundby, C., y Olsen, N. V. (2011). Effects of recombinant human erythropoietin in normal humans. *The Journal of Physiology*, 589(6), 1265–1271.
- Luo, B., Gan, W., Liu, Z., Shen, Z., Wang, J., Shi, R., Liu, Y., Liu, Y., Jiang, M., Zhang, Z., y Wu, Y. (2016). Erythropoietin Signaling in Macrophages Promotes Dying Cell Clearance and Immune Tolerance. *Immunity*, 44(2), 287–302.
- Lupatini, A. L., de Oliveira Bispo, L., Colla, L. M., Costa, J., Canan, C., y Colla, E. (2017). Protein and carbohydrate extraction from *S. platensis* biomass by ultrasound and mechanical agitation. *Food Research International*, 99(3), 1028–1035.
- Ma, M. M., Li, Y., Liu, X. Y., Zhu, W. W., Ren, X., Kong, G. Q., Huang, X., Wang, L. P., Luo, L. Q., y Wang, X. Z. (2015). Cyanidin-3-O-Glucoside Ameliorates Lipopolysaccharide-Induced Injury Both In Vivo and In Vitro Suppression of NF- κ B and MAPK Pathways. *Inflammation*, 38(4), 1669–1682.
- Machida, S., y Booth, F. W. (2004a). Insulin-like growth factor 1 and muscle growth: implication for satellite cell proliferation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63(2), 337–340.

- Machida, S., y Booth, F. W. (2004b). Insulin-like growth factor 1 and muscle growth: implication for satellite cell proliferation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63(2), 337–340.
- Maclaren, D., y Morton, J. (2012). *Biochemistry for Sport and Exercise Metabolism*. Wiley-Blackwell.
- Makarenkova, I. D., Logunov, D. Y., Tukhvatulin, A. I., Semenova, I. B., Besednova, N. N., y Zvyagintseva, T. N. (2012). Interactions between sulfated polysaccharides from sea brown algae and toll-like receptors on HEK293 eukaryotic cells in vitro. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 154(2), 241–244.
- Makimura, H., Murphy, C. A., Feldpausch, M. N., y Grinspoon, S. K. (2014). The Effects of Tesamorelin on Phosphocreatine Recovery in Obese Subjects With Reduced GH. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, 99(1), 338–343.
- Malech, H. L., DeLeo, F. R., y Quinn, M. T. (2020). The Role of Neutrophils in the Immune System: An Overview. *Methods in Molecular Biology*, 20(1), 3–10.
- Malutan, A. M., Dan, M., Nicolae, C., y Carmen, M. (2014). Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine changes related to menopause. *Menopause Review/Przegląd Menopauzalny*, 13(3), 162–168.
- Manna, P. R., Dyson, M. T., Eubank, D. W., Clark, B. J., Lalli, E., Sassone-Corsi, P., Zeleznik, A. J., y Stocco, D. M. (2002). Regulation of steroidogenesis and the steroidogenic acute regulatory protein by a member of the cAMP response-element binding protein family. *Molecular Endocrinology*, 16(1), 184–199.
- Mantecón, L., Moyano, R., Cameán, A. M., y Jos, A. (2019). Safety assessment of a lyophilized biomass of *Tetraselmis chuii* (TetraSOD®) in a 90 day feeding study. *Food and Chemical Toxicology*, 133(4), 110–121.
- Manzo, E., Cutignano, A., Pagano, D., Gallo, C., Barra, G., Nuzzo, G., Sansone, C., Ianora, A., Urbanek, K., Fenoglio, D., Ferrera, F., Bernardi, C., Parodi, A., Pasquale, G., Leonardi, A., Filaci, G., De Palma, R., y Fontana, A. (2017). A new marine-derived sulfoglycolipid triggers dendritic cell activation and immune adjuvant response. *Scientific Reports*, 7(1), 1–10.
- Marchiando, A. M., Graham, W. V., y Turner, J. R. (2010). Epithelial Barriers in Homeostasis and Disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 5(2), 119–144.

- Marcinko, K., y Steinberg, G. R. (2014). The role of AMPK in controlling metabolism and mitochondrial biogenesis during exercise. *Experimental Physiology*, 99(12), 1581–1585.
- Marfell-Jones, M., Stewart, A., y Olds, T. (2006). *Kinanthropometry IX: proceedings of the 9th International Conference of the International Society for the Advancement of Kinanthropometry*. 14(1), 156.
- Margolis, K. G., Cryan, J. F., y Mayer, E. A. (2021). The Microbiota-Gut-Brain Axis: From Motility to Mood. *Gastroenterology*, 160(5), 1486–1501.
- Margraf, A., Lowell, C. A., y Zarbock, A. (2022). Neutrophils in acute inflammation: current concepts and translational implications. *Blood*, 139(14), 2130–2144.
- Marinkovic, D., Zhang, X., Yalcin, S., Luciano, J. P., Brugnara, C., Huber, T., y Ghaffari, S. (2007a). Foxo3 is required for the regulation of oxidative stress in erythropoiesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(8), 2133–2144.
- Marinkovic, D., Zhang, X., Yalcin, S., Luciano, J. P., Brugnara, C., Huber, T., y Ghaffari, S. (2007b). Foxo3 is required for the regulation of oxidative stress in erythropoiesis. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(8), 2133–2144.
- Marone, G. (2000). *Mast Cells and Basophils*. Academic Press.
- Marrier, B., Robineau, J., Piscione, J., Lacombe, M., Peeters, A., Hausswirth, C., Morin, J. B., y Le Meur, Y. (2017). Supercompensation kinetics of physical qualities during a taper in team-sport athletes. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 12(9), 1163–1169.
- Martin, C. R., Osadchiy, V., Kalani, A., y Mayer, E. A. (2018). The Brain-Gut-Microbiome Axis. *Cmgh*, 6(2), 133–148.
- Martin, L. J., y Touaibia, M. (2020a). Improvement of Testicular Steroidogenesis Using Flavonoids and Isoflavonoids for Prevention of Late-Onset Male Hypogonadism. *Antioxidants*, 9(3), 278–279.
- Martin, L. J., y Touaibia, M. (2020b). Improvement of Testicular Steroidogenesis Using Flavonoids and Isoflavonoids for Prevention of Late-Onset Male Hypogonadism. *Antioxidants*, 9(3), 237–245.
- Martini, W. Z., Yu, Y. M., Chung, K. K., y Dubick, M. A. (2021). Muscle deteriorations

- become prominent within 24 hours after admission in severely burned adults. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 91(45), 176–181.
- Marzani, B., Balage, M., Vénien, A., Astruc, T., Papet, I., Dardevet, D., y Mosoni, L. (2008). Antioxidant Supplementation Restores Defective Leucine Stimulation of Protein Synthesis in Skeletal Muscle from Old Rats. *The Journal of Nutrition*, 138(11), 2205–2211.
- Masi, S., Uliana, M., y Viridis, A. (2019). Angiotensin II and vascular damage in hypertension: Role of oxidative stress and sympathetic activation. *Vascular Pharmacology*, 115(7), 13–17.
- Matsui, T. (2018). Are Peptides Absorbable Compounds? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(2), 393–394.
- Mattiuzzi, C., y Lippi, G. (2019). Current Cancer Epidemiology. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 9(4), 224–233.
- Maximiliano Gris, G. (2001). Componentes del somatotipo y ecuaciones antropométricas. *Apunts. Medicina de l'Esport*, 36(137), 5–16.
- Mazziotti, G., y Giustina, A. (2013). Glucocorticoids and the regulation of growth hormone secretion. *Nature Reviews Endocrinology* 2013, 9(5), 265–276.
- Mccormack, W. P., Shoepe, T. C., Almstedt, H. C., Jennings, C. A., y Capel, L. M. (2018). Velocity at maximal oxygen uptake best predicts 3 km race time in collegiate distance runners. *Journal of Human Sport and Exercise*, 13(7), 638.
- McCormack, W. P., Yoo, C. J., Harpstrite, K. M., Shoepe, T. C., Jennings, C. A., Capel, L. M., y Copley, C. E. (2019). Submaximal neuromuscular economy is related to cardiorespiratory fitness in endurance-trained runners. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 48(5), 69–75.
- McEwen, B. J., Morel-Kopp, M. C., Chen, W., Tofler, G. H., y Ward, C. M. (2013). Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acids on platelet function in healthy subjects and subjects with cardiovascular disease. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 39(1), 25–32.
- McLeod, V. M., Chiam, M. D. F., Lau, C. L., Rupasinghe, T. W., Boon, W. C., y Turner, B. J. (2020). Dysregulation of Steroid Hormone Receptors in Motor Neurons and Glia Associates with Disease Progression in ALS Mice. *Endocrinology*, 161(9),

- 543–553.
- Medina, K. L. (2016). Overview of the immune system. *Handbook of Clinical Neurology*, 133(12), 61–76.
- Medzhitov, R., y Janeway, C. A. (1997). Innate immunity: impact on the adaptive immune response. *Current Opinion in Immunology*, 9(1), 4–9.
- Melmed, S., y Kenneth, S. polonski. (2016). *Williams Textbook of Endocrinology* (13th ed.). Elsevier.
- Menagh, P. J., Turner, R. T., Jump, D. B., Wong, C. P., Lowry, M. B., Yakar, S., Rosen, C. J., y Iwaniec, U. T. (2010). Growth hormone regulates the balance between bone formation and bone marrow adiposity. *Journal of Bone and Mineral Research*, 25(4), 757–768.
- Meo, S. y Venditti, P. (2001). Mitochondria in Exercise-Induced Oxidative Stress. *Neurosignals*, 10(1–2), 125–140.
- Merkel, M., Eckel, R. H., y Goldberg, I. J. (2002). Lipoprotein lipase: Genetics, lipid uptake, and regulation. *Journal of Lipid Research*, 43(12), 1997–2006.
- Messerli, F. H., Bangalore, S., Bavishi, C., y Rimoldi, S. F. (2018). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors in Hypertension: To Use or Not to Use? *Journal of the American College of Cardiology*, 71(13), 1474–1482.
- Messmer, K. (1975). Hemodilution. *Surgical Clinics of North America*, 55(3), 659–678.
- Metting, F. B. (1996). Biodiversity and application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology*, 17(5), 477–489.
- Mhaouty-Kodja, S. (2018). Role of the androgen receptor in the central nervous system. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 465, 103–112.
- Michelson, A. D. (1992). Thrombin-induced down-regulation of the platelet membrane glycoprotein Ib-IX complex. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 18(1), 18–27.
- Milani, A., Basirnejad, M., Shahbazi, S., y Bolhassani, A. (2017). Carotenoids: biochemistry, pharmacology and treatment. *British Journal of Pharmacology*, 174(11), 1290–1324.
- Milasius, K., Malickaite, R., y Dadeliene, R. (2009). Effect of Spirulina food supplement

- on blood morphological parameters, biochemical composition and on the immune function of sportsmen. *Biology of Sport*, 26(2), 157–172.
- Milinki, E., Molnár, S., Kiss, A., Virág, D., y Péntes-Kónya, E. (2011). Study of microelement accumulating characteristics of microalgae. *Acta Botanica Hungarica*, 53(1–2), 159–167.
- Miller, F., Kentsis, A., Osman, R., y Pan, Z. Q. (2005). Inactivation of VHL by tumorigenic mutations that disrupt dynamic coupling of the pVHL·hypoxia-inducible transcription factor-1 α complex. *Journal of Biological Chemistry*, 280(9), 7985–7996.
- Mills, K. T., Stefanescu, A., y He, J. (2020). The global epidemiology of hypertension. *Nature Reviews Nephrology* 2020 16:4, 16(4), 223–237.
- Miner-Williams, W. M., Stevens, B. R., y Moughan, P. J. (2014). Are intact peptides absorbed from the healthy gut in the adult human? *Nutrition Research Reviews*, 27(2), 308–329.
- Mirand, E. (1965). Mechanism of testosterone action in erythropoiesis. *Nature*, 4(23), 123–145.
- Miyakoshi, M. (1980). Study of Chlorella producted from the Chikugo area. *Clinical Reports*, 14(1), 3931–3941.
- Mizoguchi, T., Arakawa, Y., Kobayashi, M., y Fujishima, M. (2011). Influence of Chlorella powder intake during swimming stress in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 404(1), 121–126.
- Mizusawa, N., y Wada, H. (2012). The role of lipids in photosystem II. *Bioenergetics*, 1817(1), 194–208.
- Monteiro, C. M., Castro, P. y Malcata, F. X. (2012). Metal uptake by microalgae: Underlying mechanisms and practical applications. *Biotechnology Progress*, 28(2), 299–311.
- Monteiro, M., Santos, R. A., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C. R., Gouvinhas, I., Barros, A., Oliva-Teles, A., Enes, P., y Díaz-Rosales, P. (2020). Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro- and microalgae extracts. *Journal of Applied Phycology*, 32(1), 349–362.

- Moore, G., y Knight, G. (2016). *Haematology* (2nd ed.). Oxford University Press.
- Moore, J. S., Monson, J. P., Kaltsas, G., Putignano, P., Wood, P. J., Sheppard, M. C., Besser, G. M., Taylor, N. F., y Stewart, P. M. (1999). Modulation of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Isozymes by Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor: In Vivo and In Vitro Studies. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, 84(11), 4172–4177.
- Moraleda Jiménez, J. M. (2017). *Pregrado de hematología*. Luzan.
- Moreda-Piñeiro, J., Moreda-Piñeiro, A., Romarís-Hortas, V., Domínguez-González, R., Alonso-Rodríguez, E., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D., y Bermejo-Barrera, P. (2012). Trace metals in marine foodstuff: Bioavailability estimation and effect of major food constituents. *Food Chemistry*, 134(1), 339–345.
- Morelli, E., y Scarano, G. (2004). Copper-induced changes of non-protein thiols and antioxidant enzymes in the marine microalga *Phaeodactylum tricorutum*. *Plant Science*, 167(2), 289–296.
- Morris, H. J., Carrillo, O., Almarales, A., Bermúdez, R. C., Lebeque, Y., Fontaine, R., Llauradó, G., y Beltrán, Y. (2007). Immunostimulant activity of an enzymatic protein hydrolysate from green microalga *Chlorella vulgaris* on undernourished mice. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(3), 456–460.
- Morton, N. M. (2010). Obesity and corticosteroids: 11 β -Hydroxysteroid type 1 as a cause and therapeutic target in metabolic disease. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 316(2), 154–164.
- Mounien, L., Tourniaire, F., y Landrier, J. F. (2019). Anti-Obesity Effect of Carotenoids: Direct Impact on Adipose Tissue and Adipose Tissue-Driven Indirect Effects. *Nutrients*, 11(7), 1578–1587.
- Mruk, D. D., Silvestrini, B., Mo, M. Y., y Cheng, C. Y. (2002). Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility. *Contraception*, 65(4), 305–311.
- Muhammad, I., Bagian, J., Fakultas, F., Universitas, K., y Yogyakarta, M. (2007). Cardiovascular reflex. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 7(1), 43–50.
- Mukhopadhyay K. (2022). Physiological basis of adaptation through super-compensation

- for better sporting result. *Advances in Health and Exercise*, 4(2), 130–140.
- Mulcahy, L. (2001). The erythropoietin receptor. *Seminars in Oncology*, 28(7), 19–23.
- Munawar, M., Khan, M. S., Saeed, M., Younas, U., Farag, M. R., Cerbo, A., El-Shall, N., Loschi, A. R., Dhama, K., y Alagawany, M. (2022). Phytosterol: nutritional significance, health benefits, and its uses in poultry and livestock nutrition. *Environment Journal*, 13(67), 1–10.
- Muñoz-Sánchez, J., y Cháñez-Cárdenas, E. (2018). The use of cobalt chloride as a chemical hypoxia model. *Wiley Online Library*, 39(4), 556–570.
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Vegas, L., Emeritus, N. ;, y Pfaller, M. A. (2017). *Medic microbiology* (Elsevier).
- Murthy, K., Rajesha, J., Swamy, M. M., y Ravishankar, G. A. (2005). Comparative Evaluation of Hepatoprotective Activity of Carotenoids of Microalgae. *Food y Function*, 8(4), 523–528.
- Mustard, J. F., y Packhman, M. A. (1978). Fibrinogen and ADP-induced Platelet Aggregation. *Blood*, 52(2), 453–466.
- Muta, Y., Tanaka, T., Hamaguchi, Y., Hamanoue, N., Motonaga, R., Tanabe, M., Nomiya, T., Nawata, H., y Yanase, T. (2019). Selective androgen receptor modulator, S42 has anabolic and anti-catabolic effects on cultured myotubes. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 17(56), 177–181.
- Nakagawa, Y., Kumagai y Han, S. (2021). Starvation-induced transcription factor CREBH negatively governs body growth by controlling GH signaling. *Wiley Online Library*, 35(6), 123–134.
- Nakashima, Y., Ohsawa, I., Konishi, F., Hasegawa, T., Kumamoto, S., Suzuki, Y., y Ohta, S. (2009). Preventive effects of Chlorella on cognitive decline in age-dependent dementia model mice. *Neuroscience Letters*, 464(3), 193–198.
- Nandi, D., Tahiliani, P., Kumar, A., y Chandu, D. (2006). The ubiquitin-proteasome system. *Journal of Biosciences*, 31(1), 137–155.
- Napoli, J. L. (2018). The Biogenesis of Retinoic Acid: A Physiologically Significant Promoter of Differentiation. *Chemistry and Biology of Synthetic Retinoids*, 13(15), 229–249.

- Nasirian, F., Mesbahzadeh, B., Maleki, S. A., Mogharnasi, M., y Kor, N. M. (2017). The effects of oral supplementation of spirulina platensis microalgae on hematological parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *American Journal of Translational Research*, 9(12), 5238.
- Naume, B., y Espevik, T. (1994). Immunoregulatory Effects of Cytokines on Natural Killer Cells. *Scandinavian Journal of Immunology*, 40(2), 128–134.
- Neary, P. J., MacDougall, J. D., Bachus, R., y Wenger, H. A. (1985). The relationship between lactate and ventilatory thresholds: coincidental or cause and effect? *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 54(1), 104–108.
- Nelson, C. C., Hendy, S. C., Shukin, R. J., Cheng, H., Bruchovsky, N., Koop, B. F., y Rennie, P. S. (1999). Determinants of DNA Sequence Specificity of the Androgen, Progesterone, and Glucocorticoid Receptors: Evidence for Differential Steroid Receptor Response Elements. *Molecular Endocrinology*, 13(12), 2090–2107.
- Nguyen, A., y Conley, A. (2008). Adrenal Androgens in Humans and Nonhuman Primates: Production, Zonation and Regulation. *Endocrine Development*, 13(34), 33–54.
- Niang, K., Ndiaye, P., Faye, A., Tine, J. A. D., Diongue, F. B., Camara, M. D., Leye, M. M., y Tal-Dia, A. (2017). Spirulina Supplementation in Pregnant Women in the Dakar Region (Senegal). *Open Journal of Obstetrics and Gynecology*, 7(1), 147–154.
- Nicoletti, M. (2016). Microalgae Nutraceuticals. *Foods*, 5(3), 67.
- Nieman, D. C. (1995). Upper respiratory tract infections and exercise. *Thorax*, 50(12), 1229–1231.
- Nieman, D. C., Johanssen, L. M., Lee, J. W., y Arabatzis, K. (1990). Infectious episodes in runners before and after the Los Angeles Marathon. *The Journal Of Sport Medicine And Physical Fitness*, 4(3), 316–326.
- Nijholt, K. T., Meems, L. M. G., Ruifrok, W. P. T., Maass, A. H., Yurista, S. R., Pavez-Giani, M. G., Mahmoud, B., Wolters, A. H. G., van Veldhuisen, D. J., van Gilst, W. H., Silljé, H. H. W., de Boer, R. A., y Westenbrink, B. D. (2021). The erythropoietin receptor expressed in skeletal muscle is essential for mitochondrial biogenesis and

- physiological exercise. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 473(8), 1301–1313.
- Nikolaia López, L., y Bojorquez, L. (2004). La regulación del factor de transcripción NF-kB. *Revista de Investigación Clínica*, 56(1), 83–92.
- Nimmerichter, A. (2018). Training with power meters. *Elite Youth Cycling*, 14(2), 120–137.
- Nurwanti, E., Uddin, M., Chang, J. S., Hadi, H., Syed-Abdul, S., Su, E., Nursetyo, A. A., Masud, J., y Bai, C. H. (2018). Roles of Sedentary Behaviors and Unhealthy Foods in Increasing the Obesity Risk in Adult Men and Women: A Cross-Sectional National Study. *Nutrients*, 10(6), 704–715.
- O'Connor, R. (1998). Survival factors and apoptosis. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 62(13), 137–166.
- O'Neill, B. T., Lee, K. Y., Klaus, K., Softic, S., Krumpoch, M. T., Fentz, J., Stanford, K. I., Robinson, M. M., Cai, W., Kleinriders, A., Pereira, R. O., Hirshman, M. F., Abel, E. D., Accili, D., Goodyear, L. J., Nair, K. S., y Kahn, C. R. (2016). Insulin and IGF-1 receptors regulate FoxO-mediated signaling in muscle proteostasis. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(9), 3433–3446.
- Ochoa-Méndez, C. E., Lara-Hernández, I., González, L. M., Aguirre-Bañuelos, P., Ibarra-Barajas, M., Castro-Moreno, P., González-Ortega, O., y Soria-Guerra, R. E. (2016). Bioactivity of an antihypertensive peptide expressed in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Journal of Biotechnology*, 240(5), 76–84.
- Odermatt, A., Arnold, P., Stauffer, A., Frey, B. M., y Frey, F. J. (1999). The N-terminal anchor sequences of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases determine their orientation in the endoplasmic reticulum membrane. *Journal of Biological Chemistry*, 274(40), 28762–28770.
- Ogata, T., Yamamoto, S. I., Nakamura, K., y Tanaka, S. (2006). Signaling axis in schwann cell proliferation and differentiation. *Molecular Neurobiology*, 33(1), 51–61.
- Oliveira, L., Teixeira, F., y Sato, M. N. (2018). Impact of Retinoic Acid on Immune Cells and Inflammatory Diseases. *Mediators of Inflammation*, 2018(14), 145–168.
- Olsen, H., y Haldosén, L. A. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma

- regulates expression of signal transducer and activator of transcription 5A. *Experimental Cell Research*, 312(8), 1371–1380.
- Omura, M., Kobayashi, S., Mizukami, Y., Mogami, K., Todoroki-Ikeda, N., Miyake, T., y Matsuzaki, M. (2001). Eicosapentaenoic acid (EPA) induces Ca²⁺-independent activation and translocation of endothelial nitric oxide synthase and endothelium-dependent vasorelaxation. *FEBS Letters*, 487(3), 361–366.
- Opal, S. M., y DePalo, V. A. (2000). Anti-Inflammatory Cytokines. *Chest*, 117(4), 1162–1172.
- Ostlund, R. E. (2007). Phytosterols, cholesterol absorption and healthy diets. *Lipids*, 42(1), 41–45.
- Ozols, J. (1995). Lumenal Orientation and Post-translational Modifications of the Liver Microsomal 11-Hydroxysteroid Dehydrogenase. *Journal of Biological Chemistry*, 270(5), 2305–2312.
- Paavolainen, L., Häkkinen, K., Hämäläinen, I., Nummela, A., y Rusko, H. (1999). Explosive-strength training improves 5-km running time by improving running economy and muscle power. *Journal of Applied Physiology*, 86(5), 1527–1533.
- Paavolainen, L., Nummela, A., y Rusko, H. (2000). Muscle power factors and VO₂max as determinants of horizontal and uphill running performance. *Scandinavian Journal of Medicine y Science in Sports*, 10(5), 286–291.
- Palacios, N., Manonelles, P., Blasco, R., Contreras, C., Franco, L., Gaztañaga, T., Manuz, B., Galván, C., y Valle, M. (2019). *Suplementos nutricionales para el deportista. Ayudas ergogénicas en el deporte* (2nd ed.). Federación española de medicina del deporte.
- Pan, W., y Kastin, A. J. (2000). Interactions of IGF-1 with the Blood-Brain Barrier in vivo and in situ. *Neuroendocrinology*, 72(3), 171–178.
- Panche, A. N., Diwan, A. D., y Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5(15), 1–15.
- P. Toche (2012). Visión panorámica del sistema inmune. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(4), 446–457.
- Pappenheimer, J. R., y Michel, C. C. (2003). Role of villus microcirculation in intestinal

- absorption of glucose: coupling of epithelial with endothelial transport. *The Journal of Physiology*, 553(2), 561–574.
- Parati, G., Torlasco, C., Pengo, M., Bilo, G., y Ochoa, J. E. (2020). Blood pressure variability: its relevance for cardiovascular homeostasis and cardiovascular diseases. *Hypertension Research* 2020 43:7, 43(7), 609–620.
- Park, J. S., Chyun, J. H., Kim, Y. K., Line, L. L., y Chew, B. P. (2010). Astaxanthin decreased oxidative stress and inflammation and enhanced immune response in humans. *Nutrition and Metabolism*, 7(1), 1–10.
- Parkin, J., y Cohen, B. (2001). An overview of the immune system. *The Lancet*, 357(9270), 1777–1789.
- Pasricha, S. R., Tye-Din, J., Muckenthaler, M. U., y Swinkels, D. W. (2021). Iron deficiency. *The Lancet*, 397(10270), 233–248.
- Patel, A. K., Singhanian, R. R., Awasthi, M. K., Varjani, S., Bhatia, S. K., Tsai, M. L., Hsieh, S. L., Chen, C. W., y Dong, C. Di. (2021). Emerging prospects of macro- and microalgae as prebiotic. *Microbial Cell Factories*, 20(1), 1–16.
- Patidar, A., Selvaraj, S., Sarode, A., Chauhan, P., Chattopadhyay, D., y Saha, B. (2018). DAMP-TLR-cytokine axis dictates the fate of tumor. *Cytokine*, 104(2), 114–123.
- Paukku, K., y Silvennoinen, O. (2004). STATs as critical mediators of signal transduction and transcription: lessons learned from STAT5. *Cytokine y Growth Factor Reviews*, 15(6), 435–455.
- Peakman, M., y Vergani, D. (2011). *Inmunología básica y clínica* (2nd ed.). Elsevier.
- Pedretti, A., De Luca, L., Marconi, C., Negrisoli, G., Aldini, G., y Vistoli, G. (2008). Modeling of the Intestinal Peptide Transporter hPepT1 and Analysis of Its Transport Capacities by Docking and Pharmacophore Mapping. *ChemMedChem*, 3(12), 1913–1921.
- Peeling, P., Binnie, M. J., Goods, P., Sim, M., y Burke, L. M. (2018). Evidence-based supplements for the enhancement of athletic performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 28(2), 178–187.
- Peng, B., Kong, G., Yang, C., y Ming, Y. (2020). Erythropoietin and its derivatives: from tissue protection to immune regulation. *Cell Death y Disease*, 11(2), 1–12.

- Perle, K. (2021). Endocrine System. *Pathology of Genetically Engineered and Other Mutant Mice*, 13(2), 355–377.
- Perron-Deshaies, G., St-Louis, P., Romero, H., y Scorza, T. (2020). Impact of Erythropoietin Production by Erythroblastic Island Macrophages on Homeostatic Murine Erythropoiesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 8930–8940.
- Philippou, A., Maridaki, M., y Koutsilieris, M. (2007). The role of the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) in skeletal muscle physiology Effect of different mechanical loading protocols in differentiated C2C12 cells View project Molecular staging of lung cancer View project. *Article in In Vivo*, 14(4), 156–167.
- Pignolet, O., Jubeau, S., Vaca-Garcia, C., y Michaud, P. (2013). Highly valuable microalgae: Biochemical and topological aspects. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 40(8), 781–796.
- Pike, C. J., Nguyen, T., Ramsden, M., Yao, M., Murphy, M. P., y Rosario, E. R. (2008). Androgen cell signaling pathways involved in neuroprotective actions. *Hormones and Behavior*, 53(5), 693–705.
- Pilecka, I., Patrignani, C., Pescini, R., Curchod, M. L., Perrin, D., Xue, Y., Yasenchak, J., Clark, A., Magnone, M. C., Zaratini, P., Valenzuela, D., Rommel, C., y Van Huijsduijnen, R. H. (2007). Protein-tyrosine phosphatase H1 controls growth hormone receptor signaling and systemic growth. *Journal of Biological Chemistry*, 282(48), 35405–35415.
- Planes, P., Rouanet, J. M., Laurent, C., Baccou, J. C., Besançon, P., y Caporiccio, B. (2002). Magnesium bioavailability from magnesium-fortified spirulina in cultured human intestinal Caco-2 cells. *Food Chemistry*, 77(2), 213–218.
- Platonov, V. (2001). *Teoría general del entrenamiento deportivo olímpico*. Paidotribo.
- Platonov, V. (1995). *El entrenamiento deportivo : teoría y metodología*. Paidotribo.
- Plenge, U., Belhage, B., Guadalupe-Grau, A., Andersen, P. R., Lundby, C., Dela, F., Stride, N., Pott, F. C., Helge, J. W., y Boushel, R. (2012). Erythropoietin treatment enhances muscle mitochondria capacity in humans. *Frontiers in Physiology*, 3(2), 50.
- Plews, D. J., Laursen, P. B., Stanley, J., Kilding, A. E., y Buchheit, M. (2013). Training

- adaptation and heart rate variability in elite endurance athletes: Opening the door to effective monitoring. *Sports Medicine*, 43(9), 773–781.
- Popov, L.-D., y Simionescu, N. (2020). Mitochondrial biogenesis: An update. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 24(9), 4892–4899.
- Portal, S., Epstein, M., y Dubnov, G. (2003). Iron deficiency and anemia in female athletes causes and risks. *Harefuah*, 142(10), 703–713.
- Poudel, S. B., Dixit, M., Neginskaya, M., Nagaraj, K., Pavlov, E., Werner, H., y Yakar, S. (2020). Effects of GH/IGF on the Aging Mitochondria. *Cells*, 9(6), 1398–1410.
- Powell, J. J., Jugdaohsingh, R., y Thompson, R. (1999). The regulation of mineral absorption in the gastrointestinal tract. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 58(1), 147–153.
- Powers, S. K. (2014). Can Antioxidants Protect Against Disuse Muscle Atrophy? *Sports Medicine*, 44(2), 155–165.
- Prior, I. A., Hood, F. E., y Hartley, J. L. (2020). The frequency of ras mutations in cancer. *Cancer Research*, 80(14), 2669–2974.
- Pujalté, I., Passagne, I., Brouillaud, B., Tréguer, M., Durand, E., Ohayon-Courtès, C., y L’Azou, B. (2011). Cytotoxicity and oxidative stress induced by different metallic nanoparticles on human kidney cells. *Particle and Fibre Toxicology*, 8(1), 1–16.
- Purton, L. E., Dworkin, S., Olsen, G. H., Walkley, C. R., Fabb, S. A., Collins, S. J., y Chambon, P. (2006). RAR γ is critical for maintaining a balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation. *Journal of Experimental Medicine*, 203(5), 1283–1293.
- Qin, C., Zhou, S., Xiao, Y., y Chen, L. (2014). Erythropoietin enhances mitochondrial biogenesis in cardiomyocytes exposed to chronic hypoxia through Akt/eNOS signalling pathway. *Cell Biology International*, 38(3), 335–342.
- Rabinovsky, E. D. (2004). The multifunctional role of IGF-1 in peripheral nerve regeneration. *Neurological Research*, 26(2), 204–210.
- Radak, Z., Ishihara, K., Tekus, E., Varga, C., Posa, A., Balogh, L., Boldogh, I., y Koltai, E. (2017). Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biology*, 12(4), 285–290.

- Raglin, J. S. (2012, November 13). Psychological Factors in Sport Performance. *Sports Medicine*, 31(12), 875–890.
- Raja, R., y Hemaiswarya, S. (2010). Microalgae and Immune Potential. *Dietary Components and Immune Function*, 13(2), 515–527.
- Ramírez, E. (2007). *Inmunología de Kuby* (6th ed.). McGraw-Hill.
- Ramírez, P., Torres, S., Lama, C., Mantecón, L., Unamunzaga, C., y Infante, C. (2020). TetraSOD® activates the antioxidant response pathway in human cells: An in vitro approach. *African Journal of Biotechnology*, 19(6), 367–373.
- Ranade, V., y Somberg, J. C. (2001). Bioavailability and Pharmacokinetics of Magnesium After Administration. *American Journals of Therapeutics*, 8(5), 345–357.
- Rao, A. R., Sarada, R., Baskaran, V., y Ravishankar, G. A. (2006). Antioxidant activity of Botryococcus braunii extract elucidated in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(13), 4593–4599.
- Rasmussen, S. B., Jensen, S. B., Nielsen, C., Quartin, E., Kato, H., Chen, Z. J., Silverman, R. H., Akira, S., y Paludan, S. R. (2009). Herpes simplex virus infection is sensed by both Toll-like receptors and retinoic acid-inducible genelike receptors, which synergize to induce type I interferon production. *Journal of General Virology*, 90(1), 74–78.
- Reboloso Fuentes, M. M., Acién Fernández, G. G., Sánchez Pérez, J. A., y Guil Guerrero, J. L. (2000). Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chemistry*, 70(3), 345–353.
- Recknagel, R. O., Glende, E. A., y Britton, R. S. (2020). Free Radical Damage and Lipid Peroxidation. *Hepatotoxicology*, 31(2), 401–436.
- Redgrave, T. G. (2004). Chylomicron metabolism. *Biochemical Society Transactions*, 32(1), 79–82.
- Reeskamp, L. F., Volta, A., Zuurbier, L., Defesche, J. C., Hovingh, G. K., y Grefhorst, A. (2020). ABCG5 and ABCG8 genetic variants in familial hypercholesterolemia. *Journal of Clinical Lipidology*, 14(2), 207–217.
- Remize, M., Brunel, Y., Silva, J. L., Berthon, J. Y., y Filaire, E. (2021). Microalgae n-3

- PUFAs Production and Use in Food and Feed Industries. *Marine Drugs*, 19(2), 113–123.
- Renaud, S. M., Parry, D. L., y Thinh, L. (1994). Microalgae for use in tropical aquaculture I: Gross chemical and fatty acid composition of twelve species of microalgae from the Northern Territory, Australia. *Journal of Applied Phycology*, 6(3), 337–345.
- Renaud, S., Thinh, L., y Parry, D. (1999). The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. *Aquaculture*, 13(2), 456–478.
- Riccio, G., y Lauritano, C. (2019). Microalgae with Immunomodulatory Activities. *Marine Drugs*, 18(1), 2–12.
- Rich, I. N., Heit, W., y Kubanek, B. (1982). Extrarenal erythropoietin production by macrophages. *Blood*, 60(4), 1007–1018.
- Rich I, Vogt C, y Pentz S. (1988). Erythropoietin gene expression in vitro and in vivo detected by in situ hybridization. *Europe PMC*, 14(23), 505–520.
- Ricketts, M. L., Verhaeg, J. M., Bujalska, I., Howie, A. J., Rainey, W. E., y Stewart, P. M. (1998). Immunohistochemical Localization of Type 1 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase in Human Tissues. *The Journal of Clinical Endocrinology y Metabolism*, 83(4), 1325–1335.
- Rivella, S. (2019). Iron metabolism under conditions of ineffective erythropoiesis in β -Thalassemia. *Blood*, 133(1), 51–58.
- Robertson, R. C., Seira Oriach, C., Murphy, K., Moloney, G. M., Cryan, J. F., Dinan, T. G., Paul Ross, R., y Stanton, C. (2017). Omega-3 polyunsaturated fatty acids critically regulate behaviour and gut microbiota development in adolescence and adulthood. *Brain, Behavior, and Immunity*, 59(4), 21–37.
- Robey, R. W., Steadman, K., Polgar, O., y Bates, S. E. (2004). ABCG2-mediated transport of photosensitizers: Potential impact on photodynamic therapy. *Journal of Cancer Biology and Therapy*, 4(2), 195–202.
- Roca, J., Agusti, A. G. N., Alonso, A., Poole, D. C., Viegas, C., Barbera, J. A., Rodriguez-Roisin, R., Ferrer, A., y Wagner, P. D. (1992). Effects of training on muscle O₂ transport at VO₂max. *Sports Medicine*, 73(3), 1067–1076.

- Roche, P., y Hoare, S. (1992). A consensus DNA-binding site for the androgen receptor. *Molecular Endocrinology*, 14(3), 134–156.
- Rodríguez-Arno, J., Perry, L., Besser, G. M., y Ross, R. J. M. (1996). Growth hormone treatment in hypopituitary GH deficient adults reduces circulating cortisol levels during hydrocortisone replacement therapy. *Clinical Endocrinology*, 45(1), 33–37.
- Rodríguez-Roque, M. J., Sánchez-Vega, R., Aguiló-Aguayo, I., Medina-Antillón, A. E., Soto-Caballero, M. C., Salas-Salazar, N. A., y Valdivia-Nájar, C. G. (2021). Cultured Microalgae for the Food Industry. In *Cultured Microalgae for the Food Industry: Current and Potential Applications*. Academic Press.
- Rodríguez, A. M., Elabd, C., Delteil, F., Astier, J., Vernochet, C., Saint-Marc, P., Guesnet, J., Guezennec, A., Amri, E. Z., Dani, C., y Ailhaud, G. (2004). Adipocyte differentiation of multipotent cells established from human adipose tissue. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 315(2), 255–263.
- Rommerts, F. F. G. (1998). Testosterone: An overview of biosynthesis, transport, metabolism and nongenomic actions. *Testosterone*, 14(15), 1–31.
- Rønnestad, B. R., y Mujika, I. (2014). Optimizing strength training for running and cycling endurance performance: A review. *Scandinavian Journal of Medicine y Science in Sports*, 24(4), 603–612.
- Root-Bernstein, R., y Stafford, J. L. (2021). Innate Receptor Activation Patterns Involving TLR and NLR Synergisms in COVID-19, ALI/ARDS and Sepsis Cytokine Storms: A Review and Model Making Novel Predictions and Therapeutic Suggestions. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(4), 2108–2115.
- Rosa, A. C., Corsi, D., Cavi, N., Bruni, N., y Dosio, F. (2021). Superoxide Dismutase Administration: A Review of Proposed Human Uses. *Molecules*, 26(7), 1860–1869.
- Rosenstock, J., Banarer, S., Fonseca, V. A., Inzucchi, S. E., William, S., Wenqing, Y., Hollis, G., Flores, R., Levy, R., Williams, W. V., Seckl, J. R., y Huber, R. (2010). The 11- β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 Inhibitor INCB13739 Improves Hyperglycemia in Patients With Type 2 Diabetes Inadequately Controlled by Metformin Monotherapy. *Diabetes Care*, 33(7), 1516–1522.
- Ross, M., y Pawlina, W. (2016). *Ross: Histología texto y atlas*. (7th ed.). Wolters Kluwer.
- Ruiz, S., Pergola, P. E., Zager, R. A., y Vaziri, N. D. (2013). Targeting the transcription

- factor Nrf2 to ameliorate oxidative stress and inflammation in chronic kidney disease. *Kidney International*, 83(6), 1029–1041.
- Rumsey, S. C., y Levine, M. (1998). Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(3), 116–130.
- Saad, S., y Yusof, Y. (2006). Comparison between locally produced *Chlorella vulgaris* and *Chlorella vulgaris* from Japan on proliferation and apoptosis of liver cancer cell line, HepG2. *Malays J Biochem Mol*, 45(5), 123–145.
- Sádaba, M. C., Martín-Estal, I., Puche, J. E., y Castilla-Cortázar, I. (2016). Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) therapy: Mitochondrial dysfunction and diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1862(7), 1267–1278.
- Sadahira, Y., y Mori, M. (1999). Role of the macrophage in erythropoiesis. *Pathology International*, 49(10), 841–848.
- Sahlin, L., Norstedt, G., And, H. E.-T. J. of steroid biochemistry, y 1994, U. (1994). Androgen regulation of the insulin-like growth factor-I and the estrogen receptor in rat uterus and liver. *Elsevier*, 14(5), 234–256.
- Saide, A., Martínez, K. A., Ianora, A., y Lauritano, C. (2021). Unlocking the Health Potential of Microalgae as Sustainable Sources of Bioactive Compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 438–445.
- Sakanoi, Y., Shuang, E., Yamamoto, K., Ota, T., Seki, K., Imai, M., Ota, R., Asayama, Y., Nakashima, A., Suzuki, K., y Tsuduki, T. (2018). Simultaneous Intake of *Euglena Gracilis* and Vegetables Synergistically Exerts an Anti-Inflammatory Effect and Attenuates Visceral Fat Accumulation by Affecting Gut Microbiota in Mice. *Nutrients*, 10(10), 1570–1589.
- Sale, D. G. (1988). Neural adaptation to resistance training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 20(5), 135–145.
- Sales, M. M., Sousa, C. V., da Silva Aguiar, S., Knechtle, B., Nikolaidis, P. T., Alves, P. M., y Simões, H. G. (2019). An integrative perspective of the anaerobic threshold. *Physiology y Behavior*, 205(6), 29–32.
- Salt, I. P., y Palmer, T. M. (2012). Exploiting the anti-inflammatory effects of AMP-activated protein kinase activation. *Biochemical Pharmacology*, 21(8), 1155–1167.

- Samarakoon, K., y Jeon, Y. J. (2012). Bio-functionalities of proteins derived from marine algae - A review. *Food Research International*, 48(2), 948–960.
- Sampathkumar, P., Prabakaran, G., Dineshkumar, R., Matharasi, A., Dinesh Kumar, R., y Sampath Kumar, P. (2018). Phytochemical screening and antimicrobial activity of marine microalgae *Tetraselmis* sp. *Phytomedicine*, 8(2), 85–90.
- Sánchez-Rivera, L., Ares, I., Miralles, B., Gómez-Ruiz, J. Á., Recio, I., Martínez-Larrañaga, M. R., Anadón, A., y Martínez, M. A. (2014). Bioavailability and kinetics of the antihypertensive casein-derived peptide HLPLP in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(49), 11869–11875.
- Sanchez, A., Candau, R. B., y Bernardi, H. (2014). FoxO transcription factors: Their roles in the maintenance of skeletal muscle homeostasis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71(9), 1657–1671.
- Bartolomé, I. (2021). *Estrés térmico y fuerza muscular*. Universidad de Extremadura.
- Sandhu, J., Dheera, B., y Shweta, S. (2010). Efficacy of spirulina supplementation on isometric strength and isometric endurance of quadriceps in trained and untrained individuals a comparative study. *Ibnosina Journal of Medicine and Biomedical Sciences*, 2(2), 79–86.
- Sano, T., y Tanaka, Y. (1987). Effect of dried, powdered *Chlorella vulgaris* on experimental atherosclerosis and alimentary hypercholesterolemia in cholesterol-fed rabbits. *Artery*, 14(2), 76–84.
- Santos-Silva, A., Rebelo, M. I., Castro, E. M. B., Belo, L., Guerra, A., Rego, C., y Quintanilha, A. (2001). Leukocyte activation, erythrocyte damage, lipid profile and oxidative stress imposed by high competition physical exercise in adolescents. *Clinica Chimica Acta*, 306(1–2), 119–126.
- Santos, E. N., y Douglas Fields, R. (2021). Regulation of myelination by microglia. *Science Advances*, 7(50), 1145–1150.
- Santos, E., Rhea, M., Simão, R., Dias, I., De Salles, B. F., Novaes, J., Leite, T., Blair, J. C., y Bunker, D. J. (2010). Influence of moderately intense strength training on flexibility in sedentary young women. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(11), 3144–3149.
- Saprõkina, Z., Karus, A., Kuusik, S., Tikk, H., Järv, P., Soidla, R., Lember, A., Kaldmäe,

- H., Karus, V., y Roasto, M. (2009). Effect of dietary linseed supplements on ω -3 PUFA content and on IGF-1 expression in broiler tissues. *Agricultural and Food Science*, 18(14), 35–44.
- Sarma, J. V., y Ward, P. A. (2011). The complement system. *Cell and Tissue Research*, 343(1), 227–235.
- Sathya, R., Mubarakali, D., Mohamedsaalis, J., y Kim, J. W. (2021). A Systemic Review on Microalgal Peptides: Bioprocess and Sustainable Applications. *Sustainability*, 13(6), 3262–3272.
- Satoh, K., Sakamoto, Y., Ogata, A., Nagai, F., Mikuriya, H., Numazawa, M., Yamada, K., y Aoki, N. (2002). Inhibition of aromatase activity by green tea extract catechins and their endocrinological effects of oral administration in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 40(7), 925–933.
- Satoskar, R., y Bhandarkar, S. (2020). *Pharmacology and Pharmacotherapeutics*. Elsevier.
- Satti, H. H., Khaleel, E. F., Badi, R. M., Elrefaie, A. O., y Mostafa, D. G. (2020). Antiplatelet activity of astaxanthin in control- and high cholesterol-fed rats mediated by down-regulation of P2Y₁₂, inhibition of NF- κ B, and increasing intracellular levels of cAMP. *Platelets*, 32(4), 469–478.
- Saunders, P. U., Pyne, D. B., Telford, R. D., y Hawley, J. A. (2004). Factors affecting running economy in trained distance runners. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 34(7), 465–485.
- Scaldeferri, F., Gerardi, V., Lopetuso, L. R., Del Zompo, F., Mangiola, F., Boškoski, I., Bruno, G., Petito, V., Laterza, L., Cammarota, G., Gaetani, E., Sgambato, A., y Gasbarrini, A. (2013). Gut microbial flora, prebiotics, and probiotics in IBD: Their current usage and utility. *BioMed Research International*, 15(2), 123–133.
- Schleim, K. D., Jacks, T., Cunningham, P., Feeney, W., Frazier, E. G., Niebauer, G. W., Zhang, D., Chen, H., Smith, R. G., y Hickey, G. (1999). Increases in Circulating Insulin-Like Growth Factor I Levels by the Oral Growth Hormone Secretagogue MK-0677 in the Beagle Are Dependent upon Pituitary Mediation. *Endocrinology*, 140(4), 1552–1558.
- Schoenfeld, B. J. (2010). The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to

- resistance training. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(10), 2857–2872.
- Scholz, B., Biology, G. L.-P., y 2006, U. (2006). Chemical screening for bioactive substances in culture media of microalgae and cyanobacteria from marine and brackish water habitats: first results. *Pharmaceutical Biology*, 44(7), 544–549.
- Schulenkorf, N., y Siefken, K. (2019). Managing sport-for-development and healthy lifestyles: The sport-for-health model. *Sport Management Review*, 22(1), 96–107.
- Schüler, L. M., Gangadhar, K. N., Duarte, P., Placines, C., Molina-Márquez, A. M., León-Bañares, R., Sousa, V. S., Varela, J., y Barreira, L. (2020). Improvement of carotenoid extraction from a recently isolated, robust microalga, *Tetraselmis* sp. CTP4 (chlorophyta). *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 43(5), 785–796.
- Scott, K. P., Tuohy, K. M., Mach -Istituto, F. E., San, A., All’adige, M., Gibson, G. R., Rastall, R. A., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., Gareau, M., Murphy, E. F., Saulnier, D., Loh, G., Macfarlane, S., Delzenne, N., Ringel, Y., Kozianowski, G., Dickmann, R., Lenoir-Wijnkoop, I., ... Buddington, R. (2010). Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods*, 7(1), 1–19.
- Scudiero, O., Lombardo, B., Brancaccio, M., Mennitti, C., Cesaro, A., Fimiani, F., Gentile, L., Moscarella, E., Amodio, F., Ranieri, A., Gragnano, F., Laneri, S., Mazzaccara, C., Di Micco, P., Caiazza, M., D’alicandro, G., Limongelli, G., Calabrò, P., Pero, R., y Frisso, G. (2021). Exercise, Immune System, Nutrition, Respiratory and Cardiovascular Diseases during COVID-19: A Complex Combination. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 904–910.
- Sebokova, E., Garg, M. L., Wierzbicki, A., Thomson, A., y Clandinin, M. T. (1990). Alteration of the lipid composition of rat testicular plasma membranes by dietary (n-3) fatty acids changes the responsiveness of Leydig cells and testosterone synthesis. *The Journal of Nutrition*, 120(6), 610–618.
- Segura-Campos, M., Chel-Guerrero, L., Betancur-Ancona, D., y Hernandez-Escalante, V. M. (2011). Bioavailability of Bioactive Peptides. *Food Reviews International*, 27(3), 213–226.

- Sellami, M., y Bragazzi, N. L. (2021). The effect of sport and physical activity on transport proteins: implications for cancer prevention and control. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*, 123(4), 17–26.
- Selmi, C., Leung, P. S. C., Fischer, L., German, B., Yang, C. Y., Kenny, T. P., Cysewski, G. R., y Gershwin, M. E. (2011). The effects of Spirulina on anemia and immune function in senior citizens. *Cellular y Molecular Immunology* 2011 8:3, 8(3), 248–254.
- Semenza, G. L. (2000). HIF-1: Mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *Journal of Applied Physiology*, 88(4), 1474–1480.
- Seo, Y. J., Kim, K. J., Choi, J., Koh, E. J., y Lee, B. Y. (2018a). Spirulina maxima Extract Reduces Obesity through Suppression of Adipogenesis and Activation of Browning in 3T3-L1 Cells and High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*, 10(6), 712–720.
- Seo, Y. J., Kim, K. J., Choi, J., Koh, E. J., y Lee, B. Y. (2018b). Spirulina maxima Extract Reduces Obesity through Suppression of Adipogenesis and Activation of Browning in 3T3-L1 Cells and High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *Nutrients*, 10(6), 712–720.
- Sergio, C. M., y Rolando, C. A. (2022). Erythropoietin regulates signaling pathways associated with neuroprotective events. *Experimental Brain Research*, 240(5), 1303–1315.
- Serth, J., Lautwein, A., Frech, M., Wittinghofer, A., y Pingoud, A. (1991). The inhibition of the GTPase activating protein-Ha-ras interaction by acidic lipids is due to physical association of the C-terminal domain of the GTPase activating protein with micellar structures. *The EMBO Journal*, 10(6), 1325–1330.
- Shahani, S., Braga-Basaria, M., Maggio, M., y Basaria, S. (2009). Androgens and erythropoiesis: Past and present. *Journal of Endocrinological Investigation*, 32(8), 704–716.
- Shahidi, N. T. (2001). A review of the chemistry, biological action, and clinical applications of anabolic-androgenic steroids. *Clinical Therapeutics*, 23(9), 1355–1390.
- Sharp, M., Sahin, K., Stefan, M., Orhan, C., Gheith, R., Reber, D., Sahin, N., Tuzcu, M., Lowery, R., Durkee, S., y Wilson, J. (2020). Phytoplankton Supplementation Lowers Muscle Damage and Sustains Performance across Repeated Exercise Bouts

- in Humans and Improves Antioxidant Capacity in a Mechanistic Animal. *Nutrients*, 12(7), 2000.
- Sharp, M., Wilson, J., Stefan, M., Gheith, R., Lowery, R., Ottinger, C., Reber, D., Orhan, C., Sahin, N., Tuzcu, M., Durkee, S., Saiyed, Z., y Sahin, K. (2021a). Marine phytoplankton improves recovery and sustains immune function in humans and lowers proinflammatory immunoregulatory cytokines in a rat model. *Physical Activity and Nutrition*, 25(1), 42–54.
- Sharp, M., Wilson, J., Stefan, M., Gheith, R., Lowery, R., Ottinger, C., Reber, D., Orhan, C., Sahin, N., Tuzcu, M., Durkee, S., Saiyed, Z., y Sahin, K. (2021b). Marine phytoplankton improves recovery and sustains immune function in humans and lowers proinflammatory immunoregulatory cytokines in a rat model. *Physical Activity and Nutrition*, 25(1), 42–54.
- Shaw, D. M., Merien, F., Braakhuis, A., y Dulson, D. (2018). T-cells and their cytokine production: The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of strenuous exercise. *Cytokine*, 104(23), 136–142.
- Sheih, I. C., Fang, T. J., Wu, T. K., y Lin, P. H. (2010). Anticancer and antioxidant activities of the peptide fraction from algae protein waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1202–1207.
- Shemer, J., Adamo, M. L., Roberts, C. T., y Leroith, D. (1992). Tissue-specific transcription start site usage in the leader exons of the rat insulin-like growth factor-I gene: evidence for differential regulation in the developing kidney. *Endocrinology*, 131(6), 2793–2799.
- Shen, W., y Matsui, T. (2017). Current knowledge of intestinal absorption of bioactive peptides. *Food y Function*, 8(12), 4306–4314.
- Shephard, R. J., y Shek, P. N. (2015). Exercise, Immunity, and Susceptibility to Infection. *The Physician and Sports Medicine*, 27(6), 47–71.
- Shete, A. N., Bute, S. S., y Deshmukh, P. R. (2014). A Study of VO₂ Max and Body Fat Percentage in Female Athletes. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(12), 145–156.
- Shete, V., y Quadro, L. (2013). Mammalian Metabolism of β -Carotene: Gaps in Knowledge. *Nutrients*, 5(12), 4849–4868.

- Sheu, M. J., Cheng, H. C., Chien, Y. C., Chou, P. Y., Huang, G. J., Chen, J. S., Lin, S. Y., y Wu, C. H. (2010). Molecular mechanism of green microalgae, *Dunaliella salina*, involved in attenuating balloon injury-induced neointimal formation. *British Journal of Nutrition*, *104*(3), 326–335.
- Shibabaw, T. (2021). Omega-3 polyunsaturated fatty acids: anti-inflammatory and anti-hypertriglyceridemia mechanisms in cardiovascular disease. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *476*(2), 993–1003.
- Shibata, S., Oda, K., Onodera-Masuoka, N., Matsubara, S., Kikuchi-Hayakawa, H., Ishikawa, F., Iwabuchi, A., y Sansawa, H. (2001). Hypocholesterolemic Effect of Indigestible Fraction of *Chlorella regularis* in Cholesterol-Fed Rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, *47*(6), 373–377.
- Shih, M. F., Chen, L. C., y Cherng, J. Y. (2013). *Chlorella* 11-Peptide Inhibits the Production of Macrophage-Induced Adhesion Molecules and Reduces Endothelin-1 Expression and Endothelial Permeability. *Marine Drugs*, *11*(10), 3861–3874.
- Shimizu, M., Natori, T., Tsuda, K., Yoshida, M., Kamada, A., Oi, K., Ishigaku, Y., Oura, K., Narumi, S., Yamamoto, M., y Terayama, Y. (2019). Thrombin-induced platelet aggregation –effect of dabigatran using automated platelet aggregometry. *Platelets*, *31*(3), 360–364.
- Shinar, E., y Rachmilewitz, E. A. (1990). Oxidative denaturation of red blood cells in thalassemia. *Seminars in Hematology*, *27*(1), 70–82.
- Shinjo, K., Takeshita, A., Higuchi, M., Ohnishi, K., y Ohno, R. (1997). Erythropoietin receptor expression on human bone marrow erythroid precursor cells by a newly-devised quantitative flow-cytometric assay. *British Journal of Haematology*, *96*(3), 551–558.
- Shortliffe, L., Ye, Y., Behr, B., y Wang, B. (2014). Testosterone Changes Bladder and Kidney Structure in Juvenile Male Rats. *The Journal of Urology*, *191*(6), 1913–1919.
- Sibbons, C. M., Thomas Brenna, J., Lawrence, P., Hoile, S. P., Clarke-Harris, R., Lillycrop, K. A., y Burdge, G. C. (2014). Effect of sex hormones on n-3 polyunsaturated fatty acid biosynthesis in HepG2 cells and in human primary hepatocytes. *Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids*, *90*(2–3), 47–

- 54.
- Sienkiewicz-Szłapka, E., Jarmołowska, B., Krawczuk, S., Kostyra, E., Kostyra, H., y Bielikowicz, K. (2009). Transport of bovine milk-derived opioid peptides across a Caco-2 monolayer. *International Dairy Journal*, 19(4), 252–257.
- Sies, H., Berndt, C., y Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry*, 86(3), 715–748.
- Sikiru, A. B., Arangasamy, A., Alemede, I. C., Egena, S., y Bhatta, R. (2019). Dietary supplementation effects of *Chlorella vulgaris* on performances, oxidative stress status and antioxidant enzymes activities of prepubertal New Zealand White rabbits. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1–7.
- Silk, D., Grimble, G. K., y Rees, R. G. (1985). Protein digestion and amino acid and peptide absorption. *Proceedings of the Nutrition Society*, 44(1), 63–72.
- Silverthorn, U. D. (2014). *Fisiología humana: Un enfoque integrado*. Médica Panamericana.
- Silvestri, L., y Nai, A. (2021). Iron and erythropoiesis: A mutual alliance. *Seminars in Hematology*, 58(3), 145–152.
- Simpore, J., Pignatelli, S., y Musumeci, S. (2007). The effects of Spiruline on the immune functions of HIV-infected undernourished children. *Journal Of Infect Developing Countries*, 1(2), 112–117.
- Simpson, H. M., Furusawa, A., Sadashivaiah, K., Civin, C. I., y Banerjee, A. (2018). STAT5 inhibition induces TRAIL/DR4 dependent apoptosis in peripheral T-cell lymphoma. *Oncotarget*, 9(24), 667–675.
- Simsek, N., Karadeniz, A., y Karaca, T. (2007). Effects of the *Spirulina Platensis* and *Panax Ginseng* Oral Supplementation on Peripheral Blood Cells in Rats Experimentally Corneal Neovascularization View project antiapoptotic effects of erdosteine View project. *Revue Méd. Vét*, 158(8), 483–488.
- Singh, R., Artaza, J. N., Taylor, W. E., Gonzalez-Cadavid, N. F., y Bhasin, S. (2003). Androgens Stimulate Myogenic Differentiation and Inhibit Adipogenesis in C3H 10T1/2 Pluripotent Cells through an Androgen Receptor-Mediated Pathway. *Endocrinology*, 144(11), 5081–5088.

- Singh, R. B., Mengi, S. A., Xu, Y. J., Arneja, A. S., y Dhalla, N. S. (2002). Pathogenesis of atherosclerosis: A multifactorial process. *Experimental y Clinical Cardiology*, 7(1), 40–50.
- Skinner, J. S., y McLellan, T. H. (1980). The Transition from Aerobic to Anaerobic Metabolism. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 51(1), 234–248.
- Skjånes, K., Aesoy, R., Herfindal, L., Skomedal, | Hanne, y Jensen, P.-E. (2021). Bioactive peptides from microalgae: Focus on anti-cancer and immunomodulating activity. *Plant Physiology and Biochemistry*, 173(2), 612–623.
- Solovchenko, A. E., Chivkunova, O. B., y Maslova, I. P. (2011). Pigment composition, optical properties, and resistance to photodamage of the microalga *Haematococcus pluvialis* cultivated under high light. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1), 9–17.
- Sousa-Victor, P., García-Prat, L., y Muñoz-Cánoves, P. (2021). Control of satellite cell function in muscle regeneration and its disruption in ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 23(3), 204–226.
- Sparling, P. B. (2013). A Meta-Analysis of Studies Comparing Maximal Oxygen Uptake in Men and Women. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 51(3), 542–552.
- Speranza, L., Pesce, M., Patruno, A., Franceschelli, S., De Lutiis, M. A., Grilli, A., y Felaco, M. (2012). Astaxanthin Treatment Reduced Oxidative Induced Pro-Inflammatory Cytokines Secretion in U937: SHP-1 as a Novel Biological Target. *Marine Drugs*, 10(4), 890–899.
- Spurrs, R. W., Murphy, A. J., y Watsford, M. L. (2003). The effect of plyometric training on distance running performance. *European Journal of Applied Physiology*, 89(1), 1–7.
- Stahl, W., y Sies, H. (2003). Antioxidant activity of carotenoids. *Molecular Aspects of Medicine*, 24(6), 345–351.
- Stambolic, V., Suzuki, A., De la Pompa, J. L., Brothers, G. M., Mirtsos, C., Sasaki, T., Ruland, J., Penninger, J. M., Siderovski, D. P., y Mak, T. W. (1998). Negative Regulation of PKB/Akt-Dependent Cell Survival by the Tumor Suppressor PTEN. *Cell*, 95(1), 29–39.
- Stancliffe, R. A. (2012). Role of Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate (HMB) in Leucine

- Stimulation of Mitochondrial Biogenesis and Fatty Acid Oxidation. *Masters Theses*, 12(42), 145–167.
- Starling, A. P., East, J. M., y Lee, A. G. (1995). Effects of phospholipid fatty acyl chain length on phosphorylation and dephosphorylation of the Ca²⁺-ATPase. *Biochemical Journal*, 310(3), 875–879.
- Stein, O., y Stein, Y. (1999). Atheroprotective mechanisms of HDL. *Atherosclerosis*, 144(2), 285–301.
- Stephenie, S., Chang, Y. P., Gnanasekaran, A., Esa, N. M., y Gnanaraj, C. (2020). An insight on superoxide dismutase (SOD) from plants for mammalian health enhancement. *Journal of Functional Foods*, 68(34), 147–178.
- Stewart, H. J. S., Bradke, F., Taberner, A., Morrell, D., Jessen, K. R., y Rhona, M. (1996). Regulation of Rat Schwann Cell Po Expression and DNA Synthesis by Insulin-like Growth Factors In Vitro. *European Journal of Neuroscience*, 8(3), 553–564.
- Stocco, D. M., y Clark, B. J. (1996). Role of the steroidogenic acute regulatory protein (StAR) in steroidogenesis. *Biochemical Pharmacology*, 51(3), 197–205.
- Storniolo, C. E., Sacanella, I., Mitjavila, M. T., Lamuela-Raventos, R. M., y Moreno, J. J. (2019). Bioactive Compounds of Cooked Tomato Sauce Modulate Oxidative Stress and Arachidonic Acid Cascade Induced by Oxidized LDL in Macrophage Cultures. *Nutrients*, 11(8), 1890.
- Streppel, M., Azzolin, N., Dohm, S., Guntinas-Lichius, O., Haas, C., Grothe, C., Wevers, A., Neiss, W. F., y Angelov, D. N. (2002). Focal application of neutralizing antibodies to soluble neurotrophic factors reduces collateral axonal branching after peripheral nerve lesion. *European Journal of Neuroscience*, 15(8), 1327–1342.
- Strickland, D. K., Gonias, S. L., y Argraves, W. S. (2002). Diverse roles for the LDL receptor family. *Trends in Endocrinology y Metabolism*, 13(2), 66–74.
- Subbaramaiah, K., Howe, L. R., Zhou, X. K., Yang, P., Hudis, C. A., Kopelovich, L., y Dannenberg, A. J. (2012). Pioglitazone, a PPAR γ agonist, suppresses CYP19 transcription: evidence for involvement of 15-hydroxyprostaglandin dehydrogenase and BRCA1. *Cancer Prevention Research (Philadelphia, Pa.)*, 5(10), 1183–1194.
- Subramanian, V. S., Sabui, S., Moradi, H., Marchant, J. S., y Said, H. M. (2018).

- Inhibition of intestinal ascorbic acid uptake by lipopolysaccharide is mediated via transcriptional mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1860(2), 556–565.
- Suetsuna, K., y Chen, J. R. (2001a). Identification of Antihypertensive Peptides from Peptic Digest of Two Microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. *Marine Biotechnology*, 3(4), 305–309.
- Suetsuna, K., y Chen, J. R. (2001b). Identification of Antihypertensive Peptides from Peptic Digest of Two Microalgae, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. *Marine Biotechnology*, 3(4), 305–309.
- Sugimoto, R., Ishibashi-Ohgo, N., Atsuji, K., Miwa, Y., Iwata, O., Nakashima, A., y Suzuki, K. (2018). Euglena extract suppresses adipocyte-differentiation in human adipose-derived stem cells. *Plos One*, 13(2), 192–404.
- Summerhill, V. I., Grechko, A. V., Yet, S. F., Sobenin, I. A., y Orekhov, A. N. (2019). The Atherogenic Role of Circulating Modified Lipids in Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(14), 3570–3582.
- Sun, D. F., Chen, Y., y Rabkin, R. (2006). Work-induced changes in skeletal muscle IGF-1 and myostatin gene expression in uremia. *Kidney International*, 70(3), 453–459.
- Sun, H., Wang, W., Li, D., Li, Q., Wang, L., Bai, G., Yang, T., Li, Q., y Zhu, Z. (2013). Experimental research Erythropoietin promotes peripheral nerve regeneration in rats by upregulating expression of insulin-like growth factor-1. *Experimental Research*, 11(56), 433–437.
- Sun, Y., Chang, R., Li, Q., y Li, B. (2016). Isolation and characterization of an antibacterial peptide from protein hydrolysates of *Spirulina platensis*. *European Food Research and Technology*, 242(5), 685–692.
- Sutton, J. R. (1992). Limitations to Maximal Oxygen Uptake. *Sports Medicine*, 13(2), 127–133.
- Svedahl, K., y MacIntosh, B. R. (2011). Anaerobic Threshold: The Concept and Methods of Measurement. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 28(2), 299–323.
- Szulinska, M., Gibas-Dorna, M., Suliburska, J., y Walkowiak, J. (2017). *Spirulina maxima* improves insulin sensitivity, lipid profile, and total antioxidant status in

- obese patients with well-treated hypertension: a randomized double-blind placebo-controlled study. *European Review for Medical and Pharmacology*, 12(55), 124–145.
- Tabebordbar, M., Wang, E. T., y Wagers, A. J. (2013). Skeletal Muscle Degenerative Diseases and Strategies for Therapeutic Muscle Repair. *Medicine and Science in Sports*, 8(3), 441–475.
- Tannin-Spitz, T., Bergman, M., Van-Moppes, D., Grossman, S., y Arad, S. (2005). Antioxidant activity of the polysaccharide of the red microalga *Porphyridium* sp. *Journal of Applied Phycology*, 17(3), 215–222.
- Tapiero, H., Nguyen Ba, G., Couvreur, P., y Tew, K. D. (2002). Polyunsaturated fatty acids (PUFA) and eicosanoids in human health and pathologies. *Biomedicine y Pharmacotherapy*, 56(5), 215–222.
- Tarento, T., McClure, D. D., Vasiljevski, E., Schindeler, A., Dehghani, F., y Kavanagh, J. M. (2018). Microalgae as a source of vitamin K1. *Algal Research*, 36(1), 77–87.
- Temel, R. E., Gebre, A. K., Parks, J. S., y Rudel, L. L. (2003). Compared with Acyl-CoA:Cholesterol O-Acyltransferase (ACAT) 1 and Lecithin:Cholesterol Acyltransferase, ACAT2 Displays the Greatest Capacity to Differentiate Cholesterol from Sitosterol. *Journal of Biological Chemistry*, 278(48), 47594–47601.
- Teuling, E., Wierenga, P. A., Agboola, J. O., Gruppen, H., y Schrama, J. W. (2019). Cell wall disruption increases bioavailability of *Nannochloropsis gaditana* nutrients for juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture*, 499(523), 269–282.
- Thau, L., Gandhi, J., y Sharma, S. (2021). Physiology, Cortisol. *StatPearls*, 12(24), 345–367.
- Thaulow, E., Erikssen, J., Sandvik, L., Stormorken, H., y Cohn, P. F. (1991). Blood platelet count and function are related to total and cardiovascular death in apparently healthy men. *Circulation*, 84(2), 613–617.
- Thon, J. N., y Italiano, J. E. (2010). Platelet Formation. *Seminars in Hematology*, 47(3), 220–226.
- Thon, J. N., y Italiano, J. E. (2012). Platelets: Production, morphology and ultrastructure. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 210(4), 3–22.

- Ticho, A. L., Calzadilla, N., Malhotra, P., Lee, H., Anbazhagan, A. N., Saksena, S., Dudeja, P. K., Lee, D., Gill, R. K., y Alrefai, W. A. (2021). NPC1L1-dependent transport of 27-alkyne cholesterol in intestinal epithelial cells. *American Journal of Physiology*, 320(5), 616–925.
- Tilbrook, P. A., y Klinken, S. P. (1999). Erythropoietin and Erythropoietin Receptor. *Growth Factors*, 17(1), 25–35.
- Timmer, L. T., Hoogaars, W., y Jaspers, R. T. (2018). The role of IGF-1 signaling in skeletal muscle atrophy. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1088(34), 109–137.
- Tofighi, A., Babaei, S., y Mollazadeh, P. (2021). The effect of 6 weeks of aerobic training with chlorella consumption on lipid peroxidation indices and total antioxidant capacity of inactive obese men following exhaustive activity. *Jundishapur Scientific Medical Journal*, 19(6), 591–604.
- Tomlinson, J. W., Moore, J., Cooper, M. S., Bujalska, I., Shahmanesh, M., Burt, C., Strain, A., Hewison, M., y Stewart, P. M. (2001). Regulation of Expression of 11 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 in Adipose Tissue: Tissue-Specific Induction by Cytokines. *Endocrinology*, 142(5), 1982–1989.
- Tonkin, J., Temmerman, L., Sampson, R. D., Gallego-Colon, E., Barberi, L., Bilbao, D., Schneider, M. D., Musarò, A., y Rosenthal, N. (2015). Monocyte/Macrophage-derived IGF-1 Orchestrates Murine Skeletal Muscle Regeneration and Modulates Autocrine Polarization. *Molecular Therapy*, 23(7), 1189–1200.
- Toro, V., Siquier-Coll, J., Bartolomé, I., Robles-Gil, M. C., Rodrigo, J., y Maynar-Mariño, M. (2020). Effects of tetraselmis chuii microalgae supplementation on ergospirometric, haematological and biochemical parameters in amateur soccer players. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18), 1–12.
- Tóthová, Z., Tomc, J., Debeljak, N., y Solár, P. (2021). STAT5 as a Key Protein of Erythropoietin Signalization. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7117–7127.
- Tourniaire, F., Gouranton, E., Von Lintig, J., Keijer, J., Bonet, M. L., Amengual, J., Lietz, G., y Landrier, J. F. (2009). β -Carotene conversion products and their effects on

- adipose tissue. *Genes and Nutrition*, 4(3), 179–187.
- Tran, L. V., Malla, B. A., Sharma, A. N., Kumar, S., Tyagi, N., y Tyagi, A. K. (2016). Effect of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acid enriched diet on plasma IGF-1 and testosterone concentration, puberty and semen quality in male buffalo. *Animal Reproduction Science*, 173(13), 63–72.
- Troubat, R., Pascal Barone, |, Leman, | Samuel, Desmidt, | Thomas, Cressant, A., Boriana Atanasova, |, Brizard, | Bruno, Wissam, |, Hage, E., Surget, A., Belzung, C., y Camus, | Vincent. (2021). Neuroinflammation and depression: A review. *European Journal of Neuroscience*, 53(1), 151–171.
- Tsiftoglou, A. S., Vizirianakis, I. S., y Strouboulis, J. (2009). Erythropoiesis: Model systems, molecular regulators, and developmental programs. *IUBMB Life*, 61(8), 800–830.
- Tzemah Shahar, R., Koren, O., Matarasso, S., Shochat, T., Magzal, F., y Agmon, M. (2020). Attributes of Physical Activity and Gut Microbiome in Adults: A Systematic Review. *International Journal of Sports Medicine*, 41(12), 801–814.
- Uliyar M., Alefia S., y Uma I. (2000). The effect of Spirulina supplementation on blood haemoglobin levels of anaemic adult girls. *The Effect of Spirulina Supplementation on Blood Haemoglobin Levels of Anaemic Adult Girls.*, 37(6), 642–644.
- Umemoto, S., y Otsuki, T. (2014). Chlorella-derived multicomponent supplementation increases aerobic endurance capacity in young individuals. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 55(2), 143–146.
- Urban, R. J. (2011). Growth Hormone and Testosterone: Anabolic Effects on Muscle. *Hormone Research in Paediatrics*, 76(67), 81–83.
- Urban, R. J., Bodenbun, Y. H., Gilkison, C., Foxworth, J., Coggan, A. R., Wolfe, R. R., y Ferrando, A. (1995). Testosterone administration to elderly men increases skeletal muscle strength and protein synthesis. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 269(5), 134–156.
- Van , K. H., West, C. E., Weststrate, J. A., y Hautvast, J. G. (2000). Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. *The Journal of Nutrition*, 130(3), 503–506.
- Van Tonder, A., Schwellnus, M., Swanevelder, S., Jordaan, E., Derman, W., y Van

- Rensburg, D. C. (2016). A prospective cohort study of 7031 distance runners shows that 1 in 13 report systemic symptoms of an acute illness in the 8–12 day period before a race, increasing their risk of not finishing the race 1.9 times for those runners who started the race: SAFER study IV. *British Journal of Sports Medicine*, 50(15), 939–945.
- Vasandani, C., Kafrouni, A. I., Caronna, A., Bashmakov, Y., Gotthardt, M., Horton, J. D., y Spady, D. K. (2002). Upregulation of hepatic LDL transport by n-3 fatty acids in LDL receptor knockout mice. *Journal of Lipid Research*, 43(5), 772–784.
- Velten, L., Haas, S. F., Raffel, S., Blaszkiewicz, S., Islam, S., Hennig, B. P., Hirche, C., Lutz, C., Buss, E. C., Nowak, D., Boch, T., Hofmann, W. K., Ho, A. D., Huber, W., Trumpp, A., Essers, M. A. G., y Steinmetz, L. M. (2017). Human haematopoietic stem cell lineage commitment is a continuous process. *Nature Cell Biology*, 19(4), 271–281.
- Vergani, L., Di Giulio, A. M., Losa, M., Rossoni, G., Muller, E. E., y Gorio, A. (1998). Systemic Administration of Insulin-Like Growth Factor Decreases Motor Neuron Cell Death and Promotes Muscle Reinnervation. *J. Neuroscience Research*, 54(14), 840–847.
- Viera, I., Herrera, M., y Roca, M. (2021). In Vitro Bioaccessibility Protocol for Chlorophylls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 69(31), 8777–8786.
- Viera, I., Herrera, M., y Roca, M. (2022). Influence of food composition on chlorophyll bioaccessibility. *Food Chemistry*, 386(13), 1234–1244.
- Vijayavel, K., Anbuselvam, C., y Balasubramanian, M. P. (2007). Antioxidant effect of the marine algae *Chlorella vulgaris* against naphthalene-induced oxidative stress in the albino rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 303(1–2), 39–44.
- Villalpando, D. M., Navarro, R., Del Campo, L., Largo, C., Muñoz, D., Taberner, M., Baeza, R., Otero, C., García, H. S., y Ferrer, M. (2015). Effect of Dietary Docosahexaenoic Acid Supplementation on the Participation of Vasodilator Factors in Aorta from Orchidectomized Rats. *Journal of Tropical Agriculture*, 10(11), 142–167.
- Villar, R., Laguna, R., Martínez, D., Núñez, L., Núñez, N., y Jiménez, C. (1997). Anti-Aggregant Effects on Human Platelets of the Crude Aqueous Extract and Polar

- Fractions of the Microalga *Dunaliella tertiolecta*. *Journal of Phytotherapy Research*, 23(5), 56–78.
- Vinanica, N., Yong, A., Wong, D., Png, Y. T., Seow, S. V., Imamura, M., y Campana, D. (2020). Specific stimulation of T lymphocytes with erythropoietin for adoptive immunotherapy. *Blood*, 135(9), 668–679.
- Viñas, G., Puig, T., y Porta, R. (2012). Estrés oxidativo en pacientes con cáncer: dos caras de una misma moneda. *Medicina Clínica*, 139(4), 171–175.
- Vinik, A. I., Erbas, T., Sun Park, T., Nolan, R., y Pittenger, G. L. (2001). Platelet Dysfunction in Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 24(8), 1476–1485.
- Vittori, D. C., Chamorro, M. E., Hernández, Y. V., Maltaneri, R. E., y Nesse, A. B. (2021). Erythropoietin and derivatives: Potential beneficial effects on the brain. *Journal of Neurochemistry*, 158(5), 1032–1057.
- Volkman, J. K., Barrett, S. M., Blackburn, S. I., Mansour, M. P., Sikes, E. L., y Gelin, F. (1998). Microalgal biomarkers: A review of recent research developments. *Organic Geochemistry*, 29(5), 1163–1179.
- Voltarelli, F. A., y De Mello, M. (2008). Spirulina enhanced the skeletal muscle protein in growing rats. *European Journal of Nutrition*, 47(7), 393–400.
- Vymazal, J. (1995). Algae and Element Cycling in Wetlands. *Environmental Science*, 16(7), 456–477.
- Wada, N., Ito, K., y Nakagawa, T. (2020). Optimal training plans on physical performance considering supercompensation. *Communications in Statistics-Theory and Methods*, 49(15), 3761–3771.
- Walkley, C. R., Olsen, G. H., Dworkin, S., Fabb, S. A., Swann, J., McArthur, G. A. A., Westmoreland, S. V., Chambon, P., Scadden, D. T., y Purton, L. E. (2007). A Microenvironment-Induced Myeloproliferative Syndrome Caused by Retinoic Acid Receptor γ Deficiency. *Cell*, 129(6), 1097–1110.
- Walsh, P. T., Smith, L. M., y O'Connor, R. (2002). Insulin-like growth factor-1 activates Akt and Jun N-terminal kinases (JNKs) in promoting the survival of T lymphocytes. *Immunology*, 107(4), 461–471.
- Wang, B., y Li, B. (2017). Effect of molecular weight on the transepithelial transport and

- peptidase degradation of casein-derived peptides by using Caco-2 cell model. *Food Chemistry*, 218(4), 1–8.
- Wang, G. L., y Semenza, G. L. (1995). Purification and Characterization of Hypoxia-inducible Factor 1. *Journal of Biological Chemistry*, 270(3), 1230–1237.
- Wang, H. M., Pan, J. L., Chen, C. Y., Chiu, C. C., Yang, M. H., Chang, H. W., y Chang, J. S. (2010). Identification of anti-lung cancer extract from *Chlorella vulgaris* C-C by antioxidant property using supercritical carbon dioxide extraction. *Process Biochemistry*, 45(12), 1865–1872.
- Wang, J., Hu, X., Chen, J., Wang, T., Huang, X., y Chen, G. (2022). The Extraction of β -Carotene from Microalgae for Testing Their Health Benefits. *Foods*, 11(4), 502–512.
- Wang, L., Jia, Y., Rogers, H., Suzuki, N., Gassmann, M., Wang, Q., McPherron, A. C., Kopp, J. B., Yamamoto, M., y Noguchi, C. T. (2013). Erythropoietin contributes to slow oxidative muscle fiber specification via PGC-1 α and AMPK activation. *The International Journal of Biochemistry y Cell Biology*, 45(7), 1155–1164.
- Wang, R. X., Chai, Q., Lu, T., y Lee, H. C. (2011). Activation of vascular BK channels by docosahexaenoic acid is dependent on cytochrome P450 epoxygenase activity. *Cardiovascular Research*, 90(2), 344–352.
- Wang, X. J., Shen, C. L., Dyson, M. T., Eimerl, S., Orly, J., Hutson, J. C., y Stocco, D. M. (2005). Cyclooxygenase-2 regulation of the age-related decline in testosterone biosynthesis. *Endocrinology*, 146(10), 4202–4208.
- Wang, Y., Huang, Y., Yang, J., Zhou, F. Q., Zhao, L., y Zhou, H. (2018). Pyruvate is a prospective alkalizer to correct hypoxic lactic acidosis. *Military Medical Research*, 5(1), 34–43.
- Warren, A. M., y Grossmann, M. (2022). Haematological actions of androgens. *Best Practice y Research Clinical Endocrinology y Metabolism*, 13(4), 101–145.
- Warren, M., y Constantini, N. (2000). Sports Endocrinology. In *Sports Endocrinology*. Humana Press.
- Weaver, B. P., Dufner-Beattie, J., Kambe, T., y Andrews, G. K. (2007). Novel zinc-responsive post-transcriptional mechanisms reciprocally regulate expression of the mouse Slc39a4 and Slc39a5 zinc transporters (Zip4 and Zip5). *Biological Chemistry*,

- 388(12), 1301–1312.
- Weaver, J. U., Thaventhiran, L., Noonan, K., Burrin, J. M., Taylor, N. F., Norman, M. R., y Monson, J. P. (1994). The effect of growth hormone replacement on cortisol metabolism and glucocorticoid sensitivity in hypopituitary adults. *Clinical Endocrinology*, 41(5), 639–648.
- Weber, J. P., Walsh, P. C., Peters, C. A., y Spivak, J. L. (1991). Effect of reversible androgen deprivation on hemoglobin and serum immunoreactive erythropoietin in men. *American Journal of Hematology*, 36(3), 190–194.
- Weber, P., y Raederstorff, D. (2000). Triglyceride-lowering effect of omega-3 LC-polyunsaturated fatty acids--a review. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, 10(1), 28–37.
- Wei, H. K., Zhou, Y., Jiang, S., Tao, Y. X., Sun, H., Peng, J., y Jiang, S. (2013). Feeding a DHA-enriched diet increases skeletal muscle protein synthesis in growing pigs: association with increased skeletal muscle insulin action and local mRNA expression of insulin-like growth factor 1. *British Journal of Nutrition*, 110(4), 671–680.
- Weidemann, A., y Johnson, R. S. (2009). Nonrenal regulation of EPO synthesis. *Kidney International*, 75(7), 682–688.
- Weiner, R. B., y Baggish, A. L. (2012). Exercise-Induced Cardiac Remodeling. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 54(5), 380–386.
- Weiss, G. A., y Hennet, T. (2017). Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(16), 2959–2977.
- Wheeler, G., Ishikawa, T., Pornsaksit, V., y Smirnov, N. (2015). Evolution of alternative biosynthetic pathways for vitamin C following plastid acquisition in photosynthetic eukaryotes. *Elife*, 13(4), 134–156.
- White, J., Petrella, F., y Ory, J. (2022). Testosterone therapy and secondary erythrocytosis. *International Journal of Impotence Research*, 34(5), 1–5.
- Witkowska, D., Słowik, J., y Chilicka, K. (2021). Heavy Metals and Human Health: Possible Exposure Pathways and the Competition for Protein Binding Sites. *Molecules*, 26(19), 607–618.

- Wu, J.-P. (2020). *Chlorella* sp. Protective Effect on Acetaminophen-Induced Liver Toxicity in ICR Mice. *International Journal of Preventive Medicine*, 11(1), 234–246.
- Wu, J., Gu, X., Yang, D., Xu, S., Wang, S., Chen, X., y Wang, Z. (2021). Bioactive substances and potentiality of marine microalgae. *Food Science y Nutrition*, 9(9), 5279–5292.
- Wu, J., Wang, K., Wang, X., Pang, Y., y Jiang, C. (2021). The role of the gut microbiome and its metabolites in metabolic diseases. *Protein and Cell*, 12(5), 360–373.
- Wu, Q., Liu, L., Miron, A., Klímová, B., Wan, D., y Kuča, K. (2016). The antioxidant, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of *Spirulina*: an overview. *Archives of Toxicology*, 90(8), 1817–1840.
- Wu, Y., Zhao, W., Zhao, J., Pan, J., Wu, Q., Zhang, Y., Bauman, W. A., y Cardozo, C. P. (2007). Identification of Androgen Response Elements in the Insulin-Like Growth Factor I Upstream Promoter. *Endocrinology*, 148(6), 2984–2993.
- Würtz, M., Hvas, A. M., Kristensen, S. D., y Grove, E. L. (2012). Platelet aggregation is dependent on platelet count in patients with coronary artery disease. *Thrombosis Research*, 129(1), 56–61.
- Xie, J., Chen, X., Wu, J., Zhang, Y., Zhou, Y., Zhang, L., Tang, Y.-J., y Wei, D. (2018). Antihypertensive effects, molecular docking study, and isothermal titration calorimetry assay of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from *Chlorella*. *ACS Publications*, 66(6), 1359–1368.
- Xie, X., Wang, X., Mick, G. J., Kabarowski, J. H., Wilson, L. S., Barnes, S., Walcott, G. P., Luo, X., y McCormick, K. (2016). Effect of n-3 and n-6 Polyunsaturated Fatty Acids on Microsomal P450 Steroidogenic Enzyme Activities and In Vitro Cortisol Production in Adrenal Tissue From Yorkshire Boars. *Endocrinology*, 157(4), 1512–1521.
- Xu, Q., Hong, H., Wu, J., y Yan, X. (2019). Bioavailability of bioactive peptides derived from food proteins across the intestinal epithelial membrane: A review. *Trends in Food Science y Technology*, 86(13), 399–411.
- Xu, X., de Pergola, G., y Björntorp, P. (1991). Testosterone Increases Lipolysis and the Number of β -Adrenoceptors in Male Rat Adipocytes. *Endocrinology*, 128(1), 379–

382.

- Yadavalli, R., Ratnapuram, H., Motamarri, S., Reddy, C. N., Ashokkumar, V., y Kuppam, C. (2022). Simultaneous production of flavonoids and lipids from *Chlorella vulgaris* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 12(3), 683–691.
- Yamagata, K., y Yamori, Y. (2019). Inhibition of Endothelial Dysfunction by Dietary Flavonoids and Preventive Effects against Cardiovascular Disease. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 75(1), 1–9.
- Yamamoto, L. M., Lopez, R. M., Klau, J. F., Casa, D. J., Kraemer, W. J., y Maresh, C. M. (2008). The effects of resistance training on endurance distance running performance among highly trained runners: A systematic review. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 22(6), 2036–2044.
- Yamamoto, N., Tamura, T., Kamiya, Y., Sekine, I., Kunitoh, H., y Saijo, N. (2000). Correlation between docetaxel clearance and estimated cytochrome P450 activity by urinary metabolite of exogenous cortisol. *Journal of Clinical Oncology*, 18(11), 2301–2308.
- Yang, X., Sheng, W., Sun, G. Y., y Lee, J. C. (2011). Effects of fatty acid unsaturation numbers on membrane fluidity and α -secretase-dependent amyloid precursor protein processing. *Neurochemistry International*, 58(3), 321–329.
- Yarmohammadi, S., Hosseini-Ghatar, R., Foshati, S., Moradi, M., Hemati, N., Moradi, S., Kermani, M. A., Farzaei, M. H., y Khan, H. (2021). Effect of *Chlorella vulgaris* on Liver Function Biomarkers: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Clinical Nutrition Research*, 10(1), 367–377.
- Yin, Z. S., Zhang, H., y Gao, W. (2010). Erythropoietin Promotes Functional Recovery and Enhances Nerve Regeneration after Peripheral Nerve Injury in Rats. *American Journal of Neuroradiology*, 31(3), 509–515.
- Yoshida, T., y Delafontaine, P. (2020). Mechanisms of IGF-1-Mediated Regulation of Skeletal Muscle Hypertrophy and Atrophy. *Cells*, 9(9), 1970–1988.
- Yousefi, R., Mottaghi, A., y Saidpour, A. (2018). *Spirulina platensis* effectively ameliorates anthropometric measurements and obesity-related metabolic disorders in obese or overweight healthy individuals: A randomized controlled trial.

Complementary Therapies in Medicine, 40(56), 106–112.

- Yu, P. L., Pu, H. F., Chen, S. Y., Wang, S. W., y Wang, P. S. (2010). Effects of catechin, epicatechin and epigallocatechin gallate on testosterone production in rat leydig cells. *Journal of Cellular Biochemistry*, 110(2), 333–342.
- Yuan, Y., Hilliard, G., Ferguson, T., y Millhorn, D. E. (2003). Cobalt inhibits the interaction between hypoxia-inducible factor-alpha and von Hippel-Lindau protein by direct binding to hypoxia-inducible factor-alpha. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(18), 15911–15916.
- Verkhoshansky, Y. (2000). *Superentrenamiento*. Paidotribo.
- Zaima, N., Kinoshita, S., Hieda, N., Kugo, H., Narisawa, K., Yamamoto, A., Yanagimoto, K., y Moriyama, T. (2016). Effect of dietary fish oil on mouse testosterone level and the distribution of eicosapentaenoic acid-containing phosphatidylcholine in testicular interstitium. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 7(2), 259–265.
- Zainul Azlan, N., Mohd Yusof, Y. A., Alias, E., y Makpol, S. (2019). Chlorella vulgaris Modulates Genes and Muscle-Specific microRNAs Expression to Promote Myoblast Differentiation in Culture. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 10(3), 134–156.
- Zaiss, M. M., Joyce Wu, H. J., Mauro, D., Schett, G., y Ciccia, F. (2021). The gut–joint axis in rheumatoid arthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 17(4), 224–237.
- Zempomiyaki, A., Maeda, S., y Otsuki, T. (2017). Effect of Chlorella-derived multicomponent supplementation on maximal oxygen uptake and serum vitamin B2 concentration in young men. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 61(2), 17–36.
- Zgheel, F., Perrier, S., Remila, L., Houngue, U., Mazzucotelli, J. P., Morel, O., Auger, C., y Schini-Kerth, V. B. (2019). EPA:DHA 6:1 is a superior omega-3 PUFAs formulation attenuating platelets-induced contractile responses in porcine coronary and human internal mammary artery by targeting the serotonin pathway via an increased endothelial formation of nitric oxide. *European Journal of Pharmacology*, 853(78), 41–48.
- Zhang, C. (1994). Effect of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* on erythropoiesis in mice. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 12(4), 135–144.


- Zhang, S., Cai, Y., Meng, C., Ding, X., Huang, J., Luo, X., Cao, Y., Gao, F., y Zou, M. (2021). The role of the microbiome in diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 172(18), 34–40.
- Zhang, X., Tang, N., Hadden, T. J., y Rishi, A. K. (2011). Akt, FoxO and regulation of apoptosis. *Molecular Cell Research*, 1813(11), 1978–1986.
- Zhang, Y., Roh, Y. J., Han, S. J., Park, I., Lee, H. M., Ok, Y. S., Lee, B. C., y Lee, S. R. (2020). Role of Selenoproteins in Redox Regulation of Signaling and the Antioxidant System: A Review. *Antioxidants*, 9(5), 383–393.
- Zhao, B., Mei, Y., Yang, J., y Ji, P. (2016). Erythropoietin-regulated oxidative stress negatively affects enucleation during terminal erythropoiesis. *Experimental Hematology*, 44(10), 975–981.
- Zhao, C., Wu, Y., Yang, C., Liu, B., y Huang, Y. (2015). Hypotensive, hypoglycaemic and hypolipidaemic effects of bioactive compounds from microalgae and marine micro-organisms. *International Journal of Food Science y Technology*, 50(8), 1705–1717.
- Zhao, D., Kwon, S. H., Chun, Y. S., Gu, M. Y., y Yang, H. O. (2017). Anti-Neuroinflammatory Effects of Fucoxanthin via Inhibition of Akt/NF- κ B and MAPKs/AP-1 Pathways and Activation of PKA/CREB Pathway in Lipopolysaccharide-Activated BV-2 Microglial Cells. *Neurochemical Research*, 42(2), 667–677.
- Zhong, Q., Wei, B., Wang, S., Ke, S., Chen, J., Zhang, H., y Wang, H. (2019). The Antioxidant Activity of Polysaccharides Derived from Marine Organisms: An Overview. *Marine Drugs*, 17(12), 684–694.
- Zhong, S., Bird, A., y Kopec, R. E. (2021). The Metabolism and Potential Bioactivity of Chlorophyll and Metallo-chlorophyll Derivatives in the Gastrointestinal Tract. *Molecular Nutrition y Food Research*, 65(7), 1889–1898.
- Zhong, S., Li, L., Shen, X., Li, Q., Xu, W., Wang, X., Tao, Y., y Yin, H. (2019). An update on lipid oxidation and inflammation in cardiovascular diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 144(156), 266–278.

ANEXOS

ANEXES

7. ANEXOS

Anexo I: Aprobación del proyecto de investigación por el Comité de bioética y bioseguridad de la Universidad de Extremadura

 UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA	VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y TRANSFERENCIA	
	Campus Universitario Avda de Elvas, s/n 06006 - BADAJOZ	NºRegistro: 156//2022
	Tel.: 924 28 93 05 Fax: 924 27 29 83	

D. JOÃO NUNO MEIRELES DA SILVA GONÇALVES RIBEIRO, SECRETARIO DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA Y BIOSEGURIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

INFORMA: Que una vez analizada por esta Comisión, en su sesión celebrada el 28/09/2022, la solicitud de Proyecto de Tesis titulado **“Tetraselmis chuii y rendimiento deportivo”**, cuyo Director es D. Marcos Antonio Maynar Mariño y cuyo Investigador Principal es D. Ángel Gabriel García Rodríguez, ha decidido por unanimidad, valorar positivamente el precitado proyecto por considerar que se ajusta a las normas éticas esenciales cumpliendo con la normativa vigente al efecto.

Y para que conste y surta los efectos oportunos firmo el presente informe.

MEIRELES DA
SILVA GONCALVES
RIBEIRO JUAN
NUNO -
08844642S

Firmado digitalmente
por MEIRELES DA
SILVA GONCALVES
RIBEIRO JUAN NUNO -
08844642S
Fecha: 2022.10.25
19:20:53 +02'00'

DE FRANCISCO
MORCILLO
JAVIER -
28946338X

Firmado digitalmente por DE
FRANCISCO MORCILLO JAVIER -
28946338X
Nombre de reconocimiento (DN):
c=ES,
serialNumber=IDCES-28946338X,
givenName=JAVIER, sn=DE
FRANCISCO MORCILLO, cn=DE
FRANCISCO MORCILLO JAVIER -
28946338X
Fecha: 2022.10.26 13:17:51 +02'00'

V.º B.º

Fdo.: Javier de Francisco Morcillo
Presidente por delegación de la
Comisión de Bioética y Bioseguridad

Anexo II: Modelo de consentimiento informado empleado en este trabajo de tesis doctoral.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto: *Tetraselmis chuii* y rendimiento deportivo

Paciente: **Paciente ID#:** _____

Centro: Facultad de Ciencias del Deporte **Centro ID#:** _____

Investigador(es): Ángel Gabriel García Rodríguez; Marcos Maynar Mariño

LEA DETENIDAMENTE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO Y ASEGÚRESE QUE ENTIENDE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN. POR FAVOR, SI ESTÁ DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO, FIRME ESTE DOCUMENTO. POR SU FIRMA RECONOCE QUE HA SIDO INFORMADO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PROYECTO, DE SUS REQUISITOS Y SUS RIESGOS Y QUE ACEPTA LIBREMENTE PARTICIPAR EN ÉL. UNA COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO LE SERÁ ENTREGADA.

OBJETO DEL ESTUDIO.

Ha sido invitado/a a participar en un estudio de investigación dirigido a evaluar los posibles efectos fisiológicos de la suplementación con la microalga *Tetraselmis chuii* sobre diferentes parámetros relacionados con el rendimiento deportivo y la fisiología humana.

PROCEDIMIENTOS Y DURACIÓN DEL ESTUDIO.

Pedimos su colaboración para realizar las siguientes actividades:

•La intervención tendrá una duración total de 90 días. En este sentido, las evaluaciones se realizarán al inicio del estudio y, posteriormente, cada 30 días hasta finalizar la intervención (en total 4 valoraciones).

•Para analizar el efecto de las microalgas se realizará un protocolo de suplementación con *Tetraselmis Chuii* o con un placebo de lactosa en polvo (según pertenencia aleatoria a grupo placebo o experimental) de una duración de 60 días. Tras este período usted no ingerirá ningún compuesto durante los próximos 30 días.

•Se le llevará a cabo un estudio antropométrico para calcular sus porcentajes de grasa y de masa muscular. También, se le aplicará una batería de test para valorar su condición física al inicio y cada 30 días durante la intervención. Esta batería de test se compone de las siguientes valoraciones: medición de las presiones arteriales (mediante tensiómetro), evaluación de la fuerza del tren inferior y superior (mediante dinamometría), evaluación de la flexibilidad de las cadenas musculares anteriores y de las cadenas musculares posteriores. El tiempo estimado total de la batería de test es de 7 minutos.

•Se le realizará una prueba de esfuerzo incremental máxima (hasta la extenuación física) con la finalidad de medir todos sus parámetros ergoespirométricos y conocer de una forma más precisa su estado de forma física al iniciar la intervención y cada 30 días hasta finalizarla

•Le extraerán muestras de sangre antes de la prueba de esfuerzo al inicio del estudio y cada 30 días durante la intervención. Tras la extracción sanguínea se evaluarán los parámetros referentes a la serie roja, la serie blanca, la serie plaquetaria, las hormonas, el perfil lipídico y las transaminasas.

Como anteriormente se mencionó, el proyecto tendrá una duración total de 90 días, durante los cuales usted nos autoriza a valorar los parámetros anteriormente citados. La muestra y los datos que cede serán utilizados exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

RESULTADOS DEL ESTUDIO.

Al finalizar el estudio se le informará del resultado global del mismo si usted lo desea, pero NO de su resultado personal, que se tratará con total confidencialidad de acuerdo con la Declaración de Helsinki y la Ley 14/2007, de Investigación biomédica.

RIESGOS DERIVADOS DE LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.

Los riesgos asociados a la toma de muestras y datos son mínimos. Se empleará material estéril individual y desechable a fin de eliminar los riesgos de infección y de contagio y las muestras se obtendrán por personal cualificado. En definitiva, este estudio no debe ocasionarle riesgos ni molestias, salvo aquellos que pueden ser derivados de la práctica normal del ejercicio físico (cansancio, etc.).

BENEFICIOS.

La participación en el proyecto no será recompensada económicamente. Aparte de lo comentado anteriormente, se estima que el desarrollo del estudio en el que participará podría proporcionarle beneficios fisiológicos atribuidos a la ingesta de microalgas como la optimización de la capacidad aeróbica y de la fuerza muscular.

COSTES.

El coste de la extracción y procesamiento de la muestra y los datos, así como los análisis posteriores serán cubiertos por el proyecto. Su participación no le supondrá ningún coste.

CONFIDENCIALIDAD DE SU MUESTRA.

De acuerdo con la normativa legal vigente, los resultados de la información obtenida se tratarán con total confidencialidad. El protocolo de recogida de datos será archivado, y a cada participante se le asignará una clave de tal modo que no pueda relacionarse la información obtenida con la identidad del sujeto. Las muestras y datos serán anonimizados, asegurando la imposibilidad de inferir su identidad, para su estudio y potencial análisis ulterior.

El investigador responsable se compromete a que la confidencialidad de los datos que se puedan obtener en este proyecto será escrupulosamente observada, y que los datos personales de los sujetos participantes serán conocidos únicamente por el investigador principal del proyecto. En los casos que corresponda, este informará al responsable médico o a los afectados si se cree que algún resultado del proyecto podría ser de su interés.

El investigador responsable se compromete a no utilizar las muestras/datos para otros estudios diferentes a los de este proyecto y a no traspasar las muestras/datos a otros posibles proyectos o equipos de investigación.

Para todo lo no previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, BOE 274 de 15 de noviembre de 2002; Ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre de Protección de Datos Personales y garantía de derechos digitales, BOE 294 de 6 de diciembre de 2018), sobre investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; BOE 159 de 4 de julio de 2007) y cualquier otra que resultara aplicable.

Los resultados del estudio pueden ser publicados en revistas científicas o publicaciones de carácter general. No obstante, la información concerniente a su participación será mantenida como confidencial.

Recibirá una copia de este Consentimiento Informado firmado por usted.

DECLARACIÓN DEL PARTICIPANTE.

He sido informado por el personal relacionado con el proyecto mencionado:

- De las ventajas e inconvenientes de este procedimiento.
- Del fin para el que se utilizarán mis muestras y datos.
- De que las muestras que cedo serán utilizadas exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.
- De que mis muestras y datos serán proporcionados de forma anónima a los investigadores del proyecto.
- De que en cualquier momento puedo solicitar información genérica sobre los estudios para los que se han utilizado mis muestras/datos.
- Que he comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

Usted tiene derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento. En ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.

SE ME HA PROPORCIONADO COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO. ACEPTO PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.

Nombre:..... Firma:

Declaración del profesional de salud médica / investigador de que ha informado debidamente al donante/participante.

Nombre:..... Firma:

Cáceres, a ____ de _____ de 20__

