

Efecto de la suplementación con soja sobre la inflamación y ácido láctico inducido por ejercicio físico exhaustivo en ratas

Diana Aguirre Rueda, Guillermo A. Sáez Abello

Universidad Santo Tomas. Bucaramanga. Colombia.

Recibido: 10/04/2019
Aceptado: 17/07/2019

Resumen

Introducción: El ejercicio físico exhaustivo genera marcadores inflamatorios y de ácido láctico. La suplementación con sustancias naturales es motivo de análisis debido a sus escasos efectos secundarios.

Objetivo: Determinar la respuesta inflamatoria y el nivel de ácido láctico inducidos por ejercicio físico exhaustivo después de la ingesta de soja en modelo animal.

Materiales y método: Se emplearon treinta ratas macho de raza Sprawley dawley de 180 a 200 g, sanos divididos en tres grupos: sedentario (C), con ingesta de soja a prueba (E+TP) y sin ingesta de soja a prueba (E). Los grupos E+TP y E, realizaron la prueba Morris Water Maze Test. Se determinaron marcadores inflamatorios como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleuquina 1 beta (IL-1 β), interleuquina 6 (IL-6) en plasma mediante técnica ELISA, enzima ciclooxigenasa 2 (COX-2), óxido nítrico sintasa (iNOS) y como marcador antiinflamatorio Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPAR- γ), el cual, se midió en músculos cuádriceps mediante técnica de Western-blot y se midió el ácido láctico en sangre.

Resultados: Se obtuvo una disminución significativa en plasma de los niveles inflamatorios de TNF- α (600 vs 350 pg/ml), IL-1 β (450 vs 150 pg/ml), e IL-6 (480 vs 100 pg/ml), COX-2 (52 vs 25 RDU) e iNOS (58 vs 8 RDU) en el grupo E+TP en comparación con el grupo E. Además se observó un aumento de la expresión de la proteína PPAR- γ (18 vs 65 RDU) en el grupo E+TP en comparación con el grupo E. Respecto a las mediciones de ácido láctico los grupos obtuvieron valores máximos de: E:35, C:22 y E+TP:28 Mmol/Lactato, lo cual, indica que el grupo E y E+TP a pesar que se sometieron a la misma prueba, los niveles de ácido láctico son heterogéneos.

Conclusión: La ingesta de soja mitiga los niveles de ácido láctico y de marcadores inflamatorios inducidos por el ejercicio físico exhaustivo en modelo animal.

Palabras clave:

Inflamación. Ácido láctico. Soja. Ejercicio. Exhaustivo.

Effect of supplementation with soy on inflammation and lactic acid induced by exhaustive physical exercise in rats

Summary

Introduction: Exhaustive physical exercise generates inflammatory and lactic acid markers. The supplementation with natural substances is reason for analysis due to its limited side effects.

Objective: To determine the inflammatory response and the level of lactic acid induced by exhaustive physical exercise after the ingestion of soybean in animal model.

Materials and method: Thirty male Sprawley dawley rats from 180 to 200 g were used, healthy divided into three groups: sedentary (C), with soybean intake tested (E+TP) and without soybean intake tested (E). The E + TP and E groups performed the Morris Water Maze Test. Inflammatory markers were determined as tumor necrosis factor alpha (TNF- α), interleukin 1 beta (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6) in plasma by ELISA technique, enzyme cyclooxygenase 2 (COX-2), nitric oxide synthase (iNOS) and as anti-inflammatory marker Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ), which was measured in quadriceps muscles by Western-blot technique and measured lactic acid in blood.

Results: A significant decrease in plasma was obtained in the inflammatory levels of TNF- α (600 vs 350 pg/ml), IL-1 β (450 vs 150 pg/ml), and IL-6 (480 vs 100 pg/ml), COX-2 (52 vs. 25 RDU) and iNOS (58 vs. 8 RDU) in the E+TP group compared to the E group. In addition an increase in the expression of the PPAR- γ protein was observed (18 vs 65 RDU) in the group E+TP compared to group E. Regarding the measurements of lactic acid, the groups obtained maximum values of: E: 35, C: 22 and E+TP: 28 Mmol/Lactate, which indicates that group E and E+TP although they underwent the same test, lactic acid levels are heterogeneous.

Conclusion: The intake of soy mitigates the levels of lactic acid and inflammatory markers induced by exhaustive physical exercise in animal models.

Key words:

Inflammation. Lactic acid. Soy. Exercise. Exhaustive.

Correspondencia: Diana Aguirre Rueda.
E-mail: diana.aguirre01@ustabuca.edu.co

Introducción

La evidencia científica relaciona los efectos beneficiosos del consumo de soja con la disminución del estrés oxidativo post ejercicio. De igual manera, la suplementación de soja combinado con ejercicio moderado podría ejercer un efecto beneficioso sobre el perfil lipídico en ratas ovariectomizadas. En este contexto, es de considerar que el ejercicio de resistencia física exhaustiva está asociado a respuestas fisiológicas a través de marcadores, los cuales, determinan la activación inflamatoria periférica como una respuesta inmunológica para la protección y estabilidad de la homeostasis^{1,2}. En respuesta a la inflamación, se presenta un aumento de citoquinas circulantes post ejercicio como es el TNF- α , IL-6, IL-10 e IL-1 β , la cual, se evidencia en ejercicio de alta intensidad causando principalmente daño muscular, órganos y supresión de la barrera inmunitaria³⁻⁵.

En respuesta para reducir el daño inflamatorio inducido, se han empleado antiinflamatorios no esteroideos (AINE), los cuales, son parte de fármacos que la Organización Mundial de la Salud (OMS) promueve por efectos analgésicos, antiagregante y antiinflamatorios⁶. Teniendo en cuenta, que el ejercicio es la sumatoria gradual de estímulos físicos, se evidencia el uso de sustancias como los AINE en deportes de resistencias⁷ lo cual, se ha podido evidenciar de su uso en Juegos Panamericanos 2007⁸ y Juegos Olímpicos de Sídney 2000^{9,10}. Sin embargo, cabe destacar que la ingesta de los AINE están relacionados con el deterioro del sistema renal, del sistema digestivo y problemas cardiovasculares como hipertensión¹¹⁻¹³.

De igual manera, existen sustancias naturales como los flavonoides que se encuentran en frutas, verduras y semillas, siendo compuestos naturales denominados nutraceuticos, fitonutrientes o fitoquímicos y que poseen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias^{14,15}. Dentro de estos compuestos se encuentran compuestos fenólicos, isotiocianatos, terpenoides, alcaloides, ácidos grasos poli-insaturados y los flavonoides representando subgrupos de metabolitos con actividad anti-inflamatoria¹⁶⁻²⁰.

Dentro de estas sustancias, se encuentra la soja, el cual, es un alimento rico en flavonoides, mostrando efectos beneficiosos para la salud a través de las isoflavonas y las proteínas que son potencialmente eficaces para la salud humana y la prevención de diversas enfermedades crónicas por su efecto antiinflamatorio^{21,22}.

Material y método

Muestra

Estudio experimental desarrollado en 30 ratas Sprawley dawley de 12 meses con un promedio de peso de 190 g, criadas y mantenidas en condiciones higiénicas, de climatización, humedad y con ciclos de luz/oscuridad (12/12 horas), pertenecientes al laboratorio de la Universidad de Valencia (España), con el cumplimiento de normativa (Dirección de la CEE 86/609, OJ L358.1, 12 de Diciembre de 1987 y Guía para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio del Instituto Nacional de Salud, NIH. Publ. No. 85-23, 1985) y aprobación del comité ético de la institución (AP-073/09).

Procedimiento

Se tomaron las medidas necesarias para minimizar el dolor o molestias en los animales de experimentación. Se emplearon 3 grupos con una n:10 para cada uno con la siguiente intervención: grupo control (C), grupo con ingesta de soja y realización de la prueba *Morris Water Maze Test*²³ (E+TP) y grupo sin ingesta de soja con intervención (E). Los tres grupos realizaron la prueba *Morris Water Maze Test* sin previo entrenamiento con aumento proporcionalmente de un 35% del peso corporal gravitatorio, encontrándose niveles promedios de lactacidemia de 28 Mmol/lactato, indicador de exhaustivo esfuerzo respecto el cuasi sumergimiento en el agua²⁴. Al grupo con ingesta de soja, se suplementó con 0,5 g x Kilogramo de peso corporal. Todas las ratas del experimento se sacrificaron inmediatamente después de la prueba *Morris Water Maze Test*.

Valoraciones

Se midieron marcadores inflamatorios como factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) en plasma mediante técnica ELISA y ciclooxigenasa-2 (COX-2) y óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en músculos sóleo mediante técnica de *Western-blot*. Además del marcador antiinflamatorio receptor activado por el proliferador de peroxisoma gamma (PPAR- γ), se midió el ácido láctico en plasma.

Análisis estadístico

Los valores se expresan como media \pm D.S. Se aplicaron pruebas paramétricas de normalidad. Las diferencias entre los grupos se evaluaron mediante ANOVA de una vía para muestras independiente. La significancia estadística fue aceptada en $P \leq 0,05$. Los conjuntos de datos en los que F era significativo se examinaron mediante una prueba T modificada.

Resultados

Los resultados mostraron una disminución significativa en el grupo E+TP en comparación con el grupo E en los niveles inflamatorios de TNF- α , IL-1 β e IL-6 en plasma (Figura 1) y en la expresión de proteínas COX-2 e iNOS (Figura 2), además de un aumento de la expresión de la proteína PPAR- γ (Figura 3). El grupo E+TP alcanza valores similares de inflamación al grupo C. Los niveles de ácido láctico disminuyeron con la ingesta de soja (Figura 4).

Discusión

El daño a nivel muscular es evidente debido a la incidencia del ejercicio físico, diferentes estudios han identificado un aumento de la Creatin Kinasa (CK) tanto en adultos mayores como en jóvenes^{25,26}, consecuentemente al igual que en nuestro estudio, se observa que el nivel de ácido láctico se encuentra en niveles mayores cuando se realizó la prueba de *Morris Water Maze Test* adaptada con el aumento del peso gravitatorio. En este contexto el balance oxidativo del organismo huma-

Figura 1. Niveles de interleucina 1β (IL-1β), Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF-α) and interleucina 6 (IL-6) (pg/ml) en plasma.

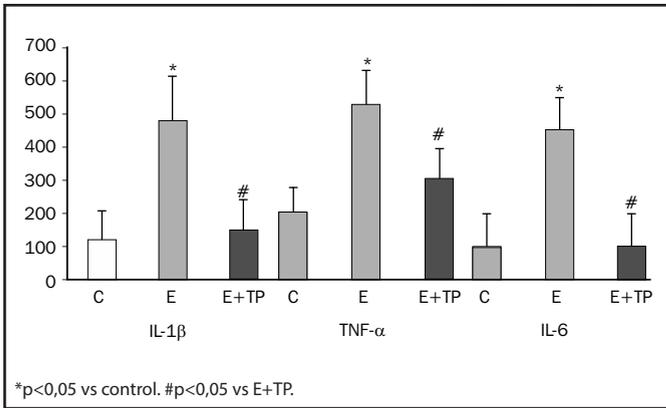


Figura 4. Niveles de ácido láctico en plasma.

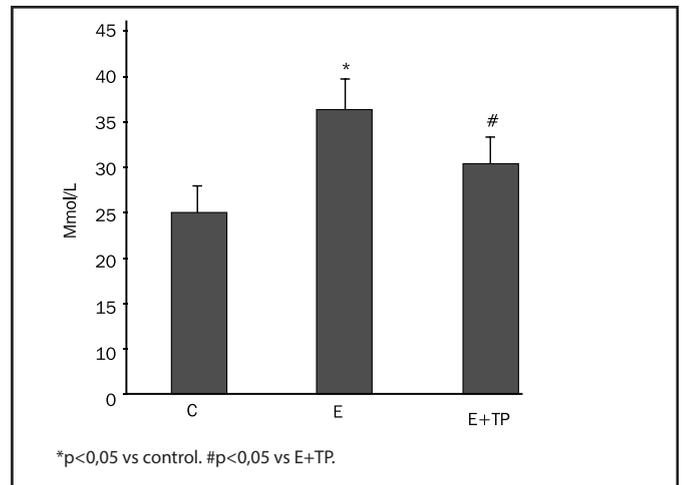


Figura 2. Expresión proteica de Ciclooxygenasa-2 COX-2 y Óxido Nítrico Sintasa Inducible (iNOS) (RDU) en músculos cuádriceps.

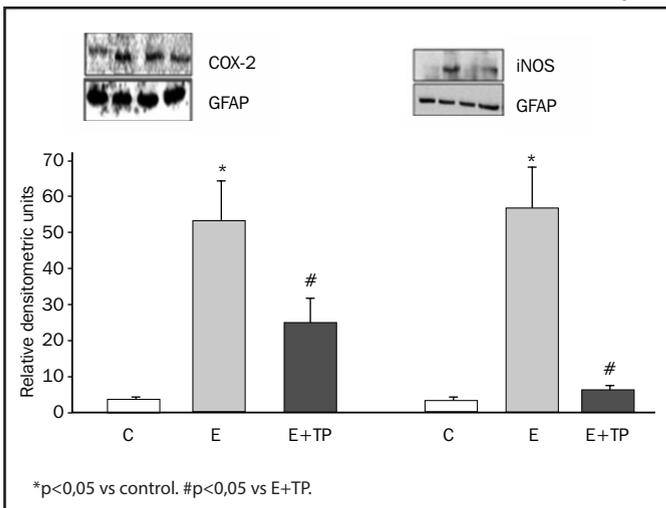
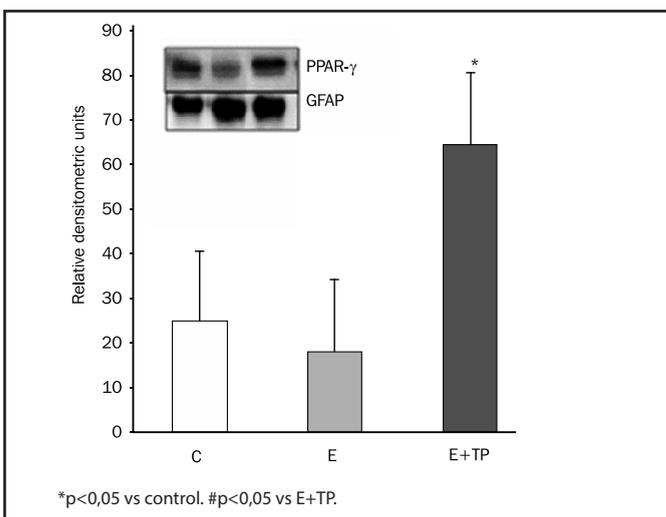


Figura 3. Niveles de Receptor Activado por el Proliferador de Peroxisoma gamma (PPAR-γ) (pg/ml) en plasma.



no es esencial para la regulación metabólica, la producción de energía metabólica, la activación e inactivación de biomoléculas, la transducción de señales, el recambio celular y el control del tono vascular, entre otros. Si este balance entre los sistemas oxidantes (generadores de especies reactivas) y los antioxidantes se desequilibra a favor de los primeros, por la producción excesiva de ROS y RNS, el debilitamiento de los sistemas antioxidantes se relaciona con la inflamación²⁷.

Se evidencia que los radicales libres juegan un papel importante como mediadores del daño muscular e inflamaciones producidas como consecuencia del ejercicio extenuante. Se plantea que la generación de radicales libres de oxígeno, se incrementa durante el ejercicio como resultado del aumento en el VO₂ mitocondrial y el mayor flujo de electrones en la cadena de transporte, por una mayor producción de ácido láctico e incluso por la redistribución del flujo sanguíneo que se produce en este tipo de esfuerzos²⁸.

Respecto la evidencia científica se plantea que los sujetos entrenados muestran una capacidad total antioxidante mayor que los no entrenados, como consecuencia de la adaptación al entrenamiento de resistencia física muscular, ya que, un mayor consumo de oxígeno provocaría un mayor incremento en el daño celular, compensado con el mayor estado antioxidante de estos sujetos²⁹. Para contribuir a reducir ese estrés metabólico algunos han sugerido suplementos para mejorar las defensas antioxidantes del sistema, pero "aquellos que consumen más alimentos vegetales podrían naturalmente tener un sistema mejorado de defensas antioxidantes" sin píldoras para contrarrestar el estrés oxidativo inducido por el ejercicio, debido al incremento en la cantidad de vegetales³⁰ esto representa una evidencia acorde a los resultados de nuestro estudio que pretende demostrar desde una experimentación la implicancia que tiene la soja respecto niveles inflamatorios. Por lo tanto, se puede considerar que los alimentos vegetales tienen en promedio 64 veces más antioxidantes que la carne, y en efecto considerar el aumento en la ingesta de alimentos que aportan fitonutrientes³¹.

Es necesario considerar atenuantes fundamentales como lo es el daño muscular producido por el ejercicio físico, el cual, ha sido altamente documentado, la sensación de dolor y malestar transcurrido un ejercicio físico moderado o exhaustivo es producto de la acción muscular, y se

agrava cuando existen mayores acciones excéntricas, presentando su máxima intensidad entre 24 y 48 horas después de haber realizado la actividad física³², desde esta perspectiva nuestro estudio establece esta condición bioquímica, la cual, es parte de la hipótesis preliminar en la consideración de la soja como inhibidor de los procesos inflamatorios representado en la muestra sostenida³³.

El uso de vitaminas C y E han sido utilizados como atenuantes del dolor muscular tardío (DMT), Thompson *et al.* (2001), suplementaron 16 hombres con vitaminas (C y E), 14 días antes de ocasionar el daño muscular con carrera intermitente, mostrando que la suplementación tiene efectos benéficos, contrario a lo que Beaton *et al.* (2002), quienes suplementaron a 18 deportistas con estas mismas vitaminas, 30 días antes del ejercicio físico. Sin embargo, el protocolo de Silva *et al.* (2010), similar al utilizado por Thompson *et al.*, concluye que la suplementación con estas vitaminas representa un carácter importante en la defensa contra el DMT y estrés oxidativo³⁴.

Connolly *et al.* (2006), concluyen que el consumo de jugo de cereza antes y después del ejercicio físico excéntrico reduce los síntomas de daño y provee un medio para ayudar a la recuperación, lo cual, es pertinente para la comparativa respecto los datos determinados en nuestro estudio, comparativa que tiene como efecto considerar una relación entre ambos y determinar finalmente la soja como un inhibidor de los procesos inflamatorios^{35,36}.

Se concluye que la exposición al consumo de polifenoles favorece la recuperación por el deterioro muscular, inflamación y estrés oxidativo inducidos por el ejercicio, debido a su reacción inmunológica a procesos inflamatorios. Los resultados de este estudio van en congruencia con los anteriormente nombrados, de esta manera la justificación mediante estudios comparativos es efectiva al momento de aceptar la hipótesis previa y de esta manera se muestra una disminución en la expresión de proteínas de COX-2 e iNOS ($p < 0,05$) en el grupo E+TP en comparación con el grupo E. El grupo E+TP alcanza valores similares del grupo C, además un aumento de la expresión de la proteína PPAR- γ ($p < 0,05$) en el grupo E+TP en comparación con el grupo E. E+TP alcanza valores similares del grupo C.

Respecto a limitaciones correspondiente al estudio se sugiere experimentar con diferentes pruebas en la determinación del ejercicio físico exhaustivo y manipular suplementación con otras sustancias, de tal manera, que se cuestionen los efectos sobre la respuesta inflamatoria.

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses alguno.

Bibliografía

- Suzuki K. Exhaustive exercise-induced neutrophil-associated tissue damage and possibility of its prevention. *J. Nanomed. Biother. Discov.* 2017;7:156.
- Stawski R, Walczak K, Kosielski P, Meissner P, Budlewski T, Padula G, *et al.* Repeated bouts of exhaustive exercise increase circulating cell free nuclear and mitochondrial DNA without development of tolerance in healthy men. *PLoS ONE.* 2017;12:e0178216.
- Suzuki K. Cytokine Response to exercise and its modulation. *Antioxidants.* 2018;7:7.
- Suzuki K, Nakaji S, Yamada M, Totsuka M, Sato K, Sugawara K. Systemic inflammatory response to exhaustive exercise: cytokine kinetics. *Exerc. Immunol. Rev.* 2002;8:6-48.
- Peake J, Wilson G, Hordern M, Suzuki K, Yamaya K, Nosaka K, *et al.* Changes in neutrophil surface receptor expression, degranulation, and respiratory burst activity after moderate- and high-intensity exercise. *J Appl Physiol.* 2004;97(2):612-8.
- Pablo-López de Abechucio I, Gálvez-Múgica M, Rodríguez D, Rey J M Del, Prieto E, Cuchi M, *et al.* Uso de antiinflamatorios no esteroideos y monitorización de la función renal: Estudio piloto en un centro de salud de Atención Primaria. *Nefrología Madr.* 2012;32:777-81.
- Alaranta A, Alaranta H, Helenius I. Use of prescription drugs in athletes. *Sports Med.* 2008;38:449-63.
- Da Silva ER, De Rose EH, Ribeiro JP, Sampedro LB, Devos, DV, Ferreira AO, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory use in the XV Pan-American Games (2007). *Br J Sports Med.* 2011;45:91-4.
- Corrigan B, Kazlauskas R. Medication use in athletes selected for doping control at the Sydney Olympics (2000). *Clin J Sport Med.* 2003;13:33-40.
- Huang SH, Johnson K, Pipe AL. The use of dietary supplements and medications by Canadian athletes at the Atlanta and Sydney Olympic Games. *Clin J Sport Med.* 2006;16:27-33.
- Maroon J C, Bost J W, Maroon A. Natural anti-inflammatory agents for pain relief. *Surg Neurol Int.* 2010;1:80.
- Chavez Gallardo A, Mallaopoma Soriano F. Consumo de antiinflamatorios no esteroideos y su relación con alteraciones gastrointestinales en población adulta del distrito de Huancayo. [tesis doctoral] Huancayo: Servicio de Publicaciones, Universidad Roosevelt. 2018. Disponible en: <http://repositorio.uroosevelt.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/ROOSEVELT/90/Consumo%20de%20antiinflamatorios%20no%20esteroideos%20y%20su%20relaci%C3%B3n%20con%20alteraciones%20gastrointestinales%20en%20poblaci%C3%B3n%20adulta%20del%20distrito%20de%20Huancayo.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Candia-Luján R, de-Paz-Fernández J.A. ¿Son efectivos los antiinflamatorios no esteroideos en el tratamiento del dolor muscular tardío? *Ciencia UAT.* 2014;9:76-83.
- Jayarathne S, Koboziev I, Park O, Oldewage-Theron A, Shen C, Moustaid-Moussa N. Anti-inflammatory and anti-obesity properties of food bioactive components: Effects on adipose tissue. *Prev Nutr Food Sci.* 2017;22:251-62.
- Min-Hsiung P, Ching-Shu L, Chi-Tang H. Anti-inflammatory activity of natural dietary flavonoids. *Food Funct.* 2010;1:15-31.
- Caballero-Gutiérrez L, Gonzáles GF. Alimentos con efecto antiinflamatorio. *Acta Med Peru.* 2016;33:50-64.
- Bellik Y, Hammoudi SM, Abdellah F, Iguer-Ouada M, Boukraâ L. Phytochemicals to prevent inflammation and allergy. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2012;6:147-58.
- Young-Joon S. NF- κ B and Nrf2 as potential chemopreventive targets of some anti-inflammatory and antioxidative phytonutrients with anti-inflammatory and antioxidative activities. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2008;17(S1):269-72.
- Pinazo MD, Boscá L. Propiedades antiinflamatorias de los ácidos grasos poliinsaturados omega-3. Indicaciones en oftalmología. *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2012;87:203-5.
- Salminen A, Kauppinen A, Kaariranta K. Phytochemicals suppress nuclear factor- κ B signaling: impact on health span and the aging process. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2012;15:23-8.
- Ganesan K, Xu B. A critical review on polyphenols and health benefits of black soybeans. *Nutrients.* 2017;9:455.
- Wang Q, Ge X, Tian X, Zhang Y, Zhang J, Zhang P. Soy isoflavone: The multipurpose phytochemical. *Biomed Rep.* 2013;1:697-701.
- Morris RGM. Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learn Motiv.* 1981;12:239-60.
- Zoremba N, Homola A, Rossaint R, Syková E. Interstitial lactate, lactate/pyruvate and glucose in rat muscle before, during and in the recovery from global hypoxia. *Acta veterinaria Scandinavica.* 2014;56:72.
- Bouzid M A, Hammouda O, Matran R, Robin S, Fabre C. Changes in oxidative stress markers and biological markers of muscle injury with aging at rest and in response to an exhaustive exercise. *PLoS One.* 2014; 9, e90420.
- Marnett L. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res.* 1999;424:83-95.
- Sánchez I, Torres V, Moreno O, Rodríguez A. Determinación del estrés oxidativo mediante peroxidación lipídica en cristalinios humanos con cataratas. *MedULA.* 2011;20:42-5.
- Gerecke KM, Kolobova A, Allen S, Fawer JL. Exercise protects against chronic restraint stress-induced oxidative stress in the cortex and hippocampus. *Brain Res.* 2013;1509:66-78.
- Matheus NJ, Mendoza CA, Meléndez C, Flores CA, Corro AC, Medina IC, *et al.* Entrenamiento aeróbico: efecto sobre el estado oxidativo hepático. *Rev Int Cienc Deporte.* 2016;12:309-23.

30. Fogarty M C, Hughes C M, Burke G, Brown J C, Davison G W. Acute and chronic watercress supplementation attenuates exercise-induced peripheral mononuclear cell DNA damage and lipid peroxidation. *Br J Nutr.* 2013;109:293-301.
31. Neubauer O, Yfanti C. Antioxidants in athlete's basic nutrition: considerations towards a guideline for the intake of vitamin C and vitamin E. En: Lamprecht M, Editor. *Antioxidants in sport nutrition.* 1a ed. Florida: CRC Press; 2015. p. 52-79.
32. Bubbico A, Kravitz L. Eccentric exercise. *IDEA Fitness Journal* [Internet] 2010 [cited 2019 March 26]; 7, 50-9. Available: <http://www.unm.edu/~lkravitz/Article%20folder/eccentricUNM.html>
33. Armstrong RB, Ogilvie RW, Schwane JA. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol.* 1983;54:80-93.
34. Beaton D, Bombardier C, Guillemin F, Ferraz M. Recommendations for the cross-cultural adaptation of health status measures. *Am Acad Orthop Surg.* 2002;12:1-9.
35. Moreira O, Oliveira C, Luján R, Romero-Pérez E, de Paz JA. Métodos de evaluación de la masa muscular: una revisión sistemática de ensayos controlados aleatorios. *Nutr Hosp.* 2015;32:977-85.
36. Connolly DAJ, McHugh MP, Padilla-Zakour OI. Efficacy of a tart cherry juice blend in preventing the symptoms of muscle damage. *Br J Sports Med.* 2006;40:679-83.