

EFFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE VITAMINA E EN EL RENDIMIENTO DE UNA PRUEBA INCREMENTAL DE CONSUMO MÁXIMO DE OXÍGENO EN RATAS WISTAR

EFFECT OF VITAMIN E SUPPLEMENTATION ON THE PERFORMANCE OF AN INCREMENTAL MAXIMAL OXYGEN UPTAKE TEST IN WISTAR RATS

Vicente
Clemente
Suárez¹

Sandra
Martín²

Jesús Porres²

Sonia Fuentes³

Pilar Aranda²

¹Laboratorio Entrenamiento Deportivo Facultad CC Deporte. Universidad Castilla la Mancha. Toledo. España.
²Departamento Fisiología. Universidad de Granada. Instituto de Nutrición y Tecnología de los alimentos. Granada. España.
³Departamento de Ciencias del Medio Ambiente. Área de Fisiología Vegetal. Universidad Castilla la Mancha. Toledo. España

RESUMEN

Diversas investigaciones han investigado el efecto de la suplementación de vitamina E en diversos marcadores de estrés oxidativo y en el rendimiento de diversas pruebas de resistencia, pero nunca en una prueba incremental hasta alcanzar el consumo de oxígeno máximo. Este trabajo pretende investigar el efecto de la toma de vitamina E en el rendimiento de una prueba incremental hasta alcanzar el consumo de oxígeno máximo en ratas. Se analizaron 2 grupos de ratas (G1: 190.8±1.83 gr; G2:198.0±0.86 gr), ambos realizaron una prueba incremental máxima en tapiz rodante (5' a 25 cm/s mas aumentos de 3 cm/s cada minuto hasta la extenuación). Dos horas antes de la prueba se administró al G1 un placebo (agua bidestilada) y al G2 una dosis de 1000UI/kg de peso de vitamina E, mediante una cánula endotraqueal. El G2 presentó unos valores de VO2max, VCO2max, VCO2relativo y RQ significativamente superiores (p<0.05) a los del G1. No se observaron diferencias significativas en las variables de VO2relativo (G1: 87.1±7.61 vs G2: 91.0±3.55 ml/kg/min), tiempo final (G1: 1231.4±297.6 s vs G2: 1268.1±115.5 s) y velocidad final (G1: 76.6±14.91 cm/s vs G2: 78.3±5.89 cm/s). Estos datos muestran que la suplementación con una dosis de 1000 UI/kg peso de vitamina E no aumenta el rendimiento de ratas wistar al realizar una prueba incremental máxima hasta alcanzar el consumo de oxígeno máximo en tapiz rodante.

Palabras clave: Ratas wistar. α -Tocoferol. Consumo Máximo de Oxígeno.

SUMMARY

Several studies have investigated the effect of vitamin E supplementation in various markers of oxidative stress and performance in different endurance exercises, but never in an incremental test to reach the maximum oxygen uptake. This work aims to investigate the effect of vitamin E supplementation on the performance of an incremental test to reach the maximum oxygen uptake in wistar rats. We analyzed two groups of wistar rats (G1: 190.8 g SEM 13.4, G2: 198.0 1.49 g SEM), both performed a maximum incremental test on a treadmill (5 'to 25 cm / s and increases of 3 cm/s every minute until exhaustion). Two hours before maximum incremental test G1 was administered a placebo (bidistilled water) and G2 was administered a dose of 1000UI/kg weight of vitamin E using an endotracheal tube. VO2max, VCO2max, relative VCO2 and RQ were significantly higher (p <0.05) in G2 when compared to G1. No significant differences were found for relative VO2 (G1: 87.14±7.61 vs G2: 91.00±3.55 ml/kg/min), final time (G1: 1231.40±297.63 s vs G2: 1268.10±115.47 s) and final speed (G1: 76.60±14.91 cm/s vs G2: 78.30±5.89 cm/s) between the two experimental groups. These data show that supplementation with a dose of 1000 IU / kg vitamin E does not increase the performance of Wistar rats in an incremental test to reach maximum oxygen uptake.

Key words: Wistar rats. α -Tocopherol. Maximal Oxygen Uptake.

CORRESPONDENCIA:

Vicente Clemente Suárez
Laboratorio Entrenamiento Deportivo
Facultad CC. Deporte. Modulo Acuático. Avda Carlos III S/n. 45004 Toledo. España.
E-mail: vicente.clemente@uclm.es

Aceptado: 30.11.2011 / Original n° 583

INTRODUCCIÓN

Los organismos que obtienen su energía a través de la reducción del oxígeno, son susceptibles a las acciones tóxicas de pequeñas cantidades de O_2^- , OH, y H_2O_2 que se forman durante el metabolismo del oxígeno, especialmente en la reducción del oxígeno por el sistema de transferencia electrónica de las mitocondrias¹. Estas tres especies junto con intermediarios inestables en la peroxidación lipídica, son designadas como especies reactivas del oxígeno (ROS)².

El entrenamiento y la competición en deportes de resistencia aumenta el consumo de oxígeno del organismo^{3,4}, produciendo con ello un aumento de los radicales de oxígeno libre. Del 1 al 2% del consumo de oxígeno total puede ser convertido a radical anión superóxido (O_2^-)⁵. Esto produce un aumento del estrés oxidativo en el organismo⁶. Estos radicales de oxígeno libre pueden dañar la membrana lipídica celular, dañar el ADN o causar daño muscular, lo cual limitaría el rendimiento deportivo⁷. La utilización de antioxidantes puede disminuir el daño oxidativo⁸, por lo cual podríamos utilizar esto como sustancia ergogénica para evitar las posibles pérdidas en el rendimiento producidas por la acción de los radicales libres.

Durante el ejercicio de resistencia puede aumentar el consumo de oxígeno entre 100-200 veces, además la vitamina E desaparece más rápidamente y la peroxidación lipídica aumenta, además se ha observado que el ejercicio extenuante causa oxidación del glutatión y de las enzimas citosólicas⁹. Una suplementación con Vitamina E y vitamina C previene la peroxidación lipídica pero no el daño muscular, la inflamación y el daño en el ADN por causa de los radicales libres⁹, aunque Maeshima, *et al*¹⁰ no observó diferencias significativas en el daño oxidativo del ADN después de administrar dosis de entre 150 y 300 gramos de vitamina E. Por el contrario Changa, *et al*¹¹ al estudiar la interacción del efecto de la suplementación de vitamina E y el entrenamiento en los marcadores de estrés oxidativo y en la actividad de las enzimas antioxidantes en ratas, observaron como el estatus de vitamina E y el en-

trenamiento tienen efecto en el estrés oxidativo, en la actividad de la glutatión peroxidasa y en la superóxido dismutasa en el músculo de ratas. Patil, *et al*¹² estudiaron las respuestas agudas al alfa-tocoferol en ciclistas, los resultados muestran que no hay diferencias significativas entre aquellos que ingirieron este antioxidante y los que ingirieron un placebo. Rokitzki, *et al*¹³ evaluó la ingesta de alfa-tocoferol durante 5 meses en ciclistas altamente entrenados, los resultados muestran como el rendimiento físico no mejoró con una suplementación con alfa-tocoferol.

El estudio de Marsh, *et al*¹⁴ mostró como la suplementación de ácido alfa-lipoico y alfa-tocoferol en entrenamiento de resistencia produce una mayor actividad de las enzimas antioxidantes (GPX, CAT), en comparación con la intervención individual sin entrenamiento. En el mismo sentido McAnulty, *et al*¹⁵ y Viitala, *et al*¹⁶ no encontraron mejoras en marcadores del estrés oxidativo y peroxidación lipídica después de suplementar con 800 UI/día y 885 mg/día respectivamente de alfa-tocoferol.

Observando la bibliografía específica de la utilización ergogénica de antioxidantes, específicamente de la vitamina E en pruebas de resistencia, comprobamos como existen pocos estudios, además, los efectos de la respuesta aguda a dosis de vitamina E antes de una prueba de resistencia son escasos. Tampoco existen investigaciones que hayan estudiado el efecto en el rendimiento de esta vitamina en pruebas en las que se alcance el consumo de oxígeno máximo, teniendo en cuenta que en este tipo de pruebas la producción de radicales libres es muy alta debido a que se alcanza el VO_{2max} y el daño que pueden provocar estos radicales libres en el organismo (daño muscular, daño en el ADN celular y peroxidación lipídica) puede disminuir el rendimiento, creemos que la utilización de una dosis de vitamina E antes de una prueba de este tipo puede mejorar el rendimiento de la prueba al proteger al organismo de la acción de los radicales libres. Por lo tanto esta investigación tiene por objetivo estudiar el efecto de la suplementación de una megadosis de vitamina E (α -tocoferol) en el rendimiento en una prueba incremental

de carrera en tapiz rodante en la que se alcanza el consumo de oxígeno máximo en ratas wistar, mediante el estudio de las variables de VO_{2max} relativo (ml/min/kg), velocidad (m/s) y tiempo final de prueba (s).

MATERIAL Y MÉTODO

Para la realización de la investigación, previa aprobación por el comité ético, se utilizaron 20 ratas macho (*Ratus norvegicus*) de la raza Wistar con un peso inicial medio de 186.6 ± 7.6 gr. Posteriormente fueron divididas aleatoriamente en dos grupos de 10 ratas cada uno (G1: 190.80 EEM 4.13 gr; G2: 198.00 EEM 1.49 gr). Tanto el G1 como el G2 realizaron un protocolo incremental corriendo en tapiz rodante hasta la extenuación con el objetivo de alcanzar el VO_{2max} , consistente en:

- 5' a la velocidad de 25 cm/s.
- Incrementos de velocidad de 3cm/s cada minuto hasta la extenuación.

Durante todo el periodo experimental las ratas se alojaron en jaulas individuales de metabolismo. Las jaulas estaban situadas en un habitación termostregulada a 22 ± 2 °C, ventilada y con un fotoperiodo controlado de 12 horas. Ambos grupos (G1 y G2) consumieron una dieta AIN93-M¹⁷ que cubría sus necesidades dietéticas diarias, y comieron y bebieron antes de la prueba *ad libitum*. Al G2 se le administró dos horas antes de la realización de la prueba incremental una dosis de 1000UI/kg de vitamina E (Acetato de dl- α -

tocoferol, CHIESI ESPAÑA SA)¹⁸, mediante una sonda endotraqueal mezclada con 0.5 ml de agua bidestilada. Al G1 se le administró un placebo consistente en 0.5 ml de agua bidestilada dos horas antes de la prueba.

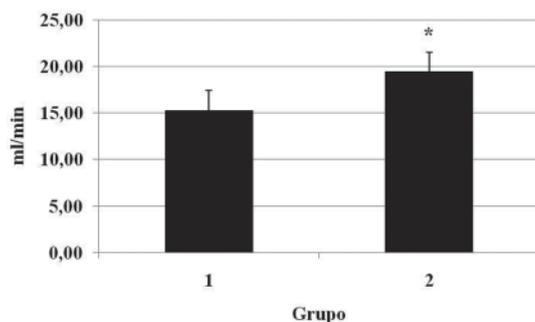
El peso de las ratas fue medido antes de realizar los grupos y justo antes de comenzar la prueba incremental con una Balanza Adventurer Pro (OHAUS, Pine Brook, USA). Para la realización del protocolo incremental en tapiz rodante se utilizó una cinta rodante modelo Treadmill Control LE8710 Panlab, un analizador de gases modelo LE405 Gas Analyser Panlab y el programa informático Metabolism V2.2.00, Panlab, del cual se extrajeron las variables de VO_{2max} relativo (ml/min), VCO_{2max} relativo (ml/min), RQ, VO_2 relativo (ml/min/kg), VCO_2 relativo (ml/min/kg), velocidad final (m/s) y tiempo final de prueba (s).

Se utilizó el programa estadístico SPSS 17.0 para tratar los datos obtenidos. Primero para comprobar si se cumplen las hipótesis de normalidad y de homocedasticidad de varianzas se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov. A continuación se realizó una Prueba T con un post hoc de Bonferroni para muestras independientes para las variables que cumplieran la hipótesis de normalidad y homocedasticidad. Para las variables que no cumplieran la hipótesis de normalidad y homocedasticidad se realizó primero la prueba de Kruskal-Wallis y a continuación la prueba U de Mann-Whitney. Para todas las comparaciones se aceptó el índice de significación de $p < 0.05$.

RESULTADOS

Los resultados muestran que no existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en el VO_{2max} relativo (87.14 ± 7.61 vs 91.00 ± 3.55 ml/kg/min), Tiempo de prueba (1231.40 ± 297.63 s vs 1268.10 ± 115.47 s) y Velocidad final (76.60 ± 14.91 vs 78.30 ± 5.89 cm/s) y si existen diferencias significativas en las variables de VO_{2max} absoluto (16.62 ± 1.83 vs 18.02 ± 0.86 ml/min) (Figura 1), VCO_{2max} (15.33 ± 2.0 vs 19.46 ± 1.49 ml/min) (Figura 2) y RQ (0.92 ± 0.09 vs 1.08 ± 0.06). Todos los resulta-

FIGURA 1.
Valores de los
grupos 1 y 2 de la
variable VCO_{2max}



* $p < 0.05$ G1 vs G2.

dos obtenidos después del test incremental para la obtención del VO_{2max} se muestran en la Tabla 1.

DISCUSIÓN

Esta investigación tenía como objetivo estudiar el efecto de la suplementación de una dosis de 1000UI/kg de vitamina E en una prueba incremental de carrera en tapiz rodante en la que se alcanza el consumo de oxígeno máximo en ratas wistar.

Este tipo de pruebas representan un gran esfuerzo para el organismo y la aparición de fatiga en este tipo de estímulos podría deberse a factores tales como la fatiga muscular¹⁸⁻²⁰ que puede ser debida al aumento del estrés oxidativo. A la luz de los resultados obtenidos podemos observar como esta concentración de vitamina E administrada dos horas antes del comienzo de la prueba no parece mejorar el rendimiento, ya que no se mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores de velocidad final de carrera, ni de tiempo final de prueba. Sin embargo se puede observar como el VO_{2max} absoluto de las ratas del G2 fue significativamente superior al de las ratas del G1, esto puede ser debido al mayor peso de las ratas del G2 (G1: 190.80 ± 3.1 gr vs G2: 198.00 ± 4.7 gr). Este argumento viene apoyado en el dato del VO_{2max} relativo, en el cual los valores de ambos grupos se igualan y no presentan diferencias significativas (G1: 87.14 ± 6.1 ml/kg/min vs G2: 91.00 ± 3.55 ml/kg/min). También se mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los dos grupos en las variables de VCO_{2max} expresados tanto en valores absolutos (G1: 15.33 ± 2.0 vs G2: 19.46 ± 1.49 ml/min) como relativos (G1: 80.21 ± 7.30 vs G2: 98.30 ± 7.49 ml/kg/min) y el RQ (G1: vs G2:), siendo los valores del G2 superiores a los del G1.

Estos valores acompañan al valor de VO_{2max} obtenido y son producto de la intensidad propia de este tipo de pruebas máximas que provocan un mayor consumo de oxígeno máximo y una mayor producción de CO_2 en la ejecución del ejercicio que realizaron las ratas en el tapiz rodante.

Si comparamos los resultados obtenidos en esta investigación con los estudios similares realizados por otros autores podemos observar que se obtuvieron los mismos resultados que en el estudio de Patil, *et al*¹², en el que también se medía la respuesta aguda de la administración de vitamina E en ciclistas. Esta falta de efecto es similar a la que tiene la vitamina E como antioxidante ante ejercicios de fuerza como demostró Viitala, *et al*¹⁶. Estos resultados que muestran como la administración de vitamina E no parece afectar al rendimiento en pruebas aeróbicas en las que la producción de radicales libres aumenta acompañado de un aumento del consumo de oxígeno máximo, ya fueron descritos por otros autores en investigaciones realizadas con ciclistas. Este es el caso del trabajo de Rokitzki, *et al*¹³ que no encontró mejoras en el rendimiento de ciclistas profesionales después de suplementarlos durante 6 meses con vitamina E. En esta misma línea

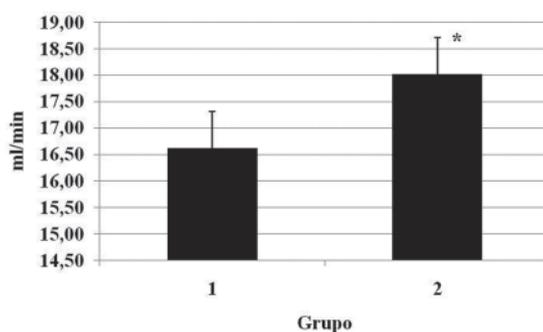


FIGURA 2. Valores de los grupos 1 y 2 de la variable VO_{2max} * $p < 0.05$ G1 vs G2

* $p < 0.05$ G1 vs G2.

Grupo	Peso (gr)	V final (cm/seg)	T prueba (seg)	RQ	VCO_{2rel} (ml/kg/min)	VO_{2rel} (ml/kg/min)
G1	190.80 ± 3.1	76.60 ± 14.91	1231.40 ± 297.63	0.92 ± 0.09	87.14 ± 7.61	80.21 ± 7.30
G2	198.00 ± 4.7	78.30 ± 5.89	1268.10 ± 115.47	$1.08 \pm 0.06^*$	91.00 ± 3.55	$98.30 \pm 7.49^*$

TABLA 1.

* $p < 0.05$ G1 vs G2.

el trabajo de Bryant, *et al*²¹ realizado con ciclistas entrenados, mostró como después de una suplementación con vitamina E (200 IU por kg de peso) y vitamina C (1g) no se producían mejoras en el rendimiento de los sujetos en un ejercicio de 60 minutos al 70% del VO_{2max} en cicloergómetro.

Aunque varios estudios han demostrado que la suplementación con vitamina E previene la peroxidación lipídica y el estrés oxidativo^{11,12,14}, el efecto sobre el rendimiento en pruebas de resistencia no se ve alterado por la administración de esta vitamina.

Por lo tanto, podemos concluir que la suplementación con una dosis de 1000 UI/kg peso de vitamina E suministrada dos horas antes de realizar una prueba incremental hasta alcanzar el VO_{2max}

en tapiz rodante realizada por ratas wistar no parece aumentar el rendimiento en esta prueba, ya que los valores de velocidad final y tiempo de prueba final no presentaron diferencias significativas entre el grupo que tomó la dosis de vitamina E y el grupo que tomó un placebo.

Se proponen como futuras líneas de investigación derivadas de este trabajo el estudio de dosis agudas más elevadas de vitamina E; de dosis que tengan una duración temporal mayor, semanas o meses, pero más elevadas a las utilizadas por la bibliografía anterior o similares a las de este estudio; el efecto de estas dosis en pruebas donde el VO_{2max} sea muy elevado y en otras donde por el contrario sea inferior y se mantenga en un espacio temporal alto, como por ejemplo en pruebas de ultrarresistencia.

B I B L I O G R A F Í A

1. **Chen Y, Gill PS, Welch WJ.** Oxygen availability limits renal NADPH dependent superoxide production. *Am J Renal Physiol.* 2005;289:F749-F753,
2. **Leeuwenburgh C, Hansen PA, Holloszy J, Heinecke JW.** Hydroxyl radical generation during exercise increases mitochondrial protein oxidation and levels of urinary dityrosine. *Free Radic. Biol. Med.* 1999;27(2):186-192.
3. **Helaine A, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL.** Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sport Exer.* 2000; 32(9):1576-1581.
4. **Wadel K, Jenkins DG, Coombes JS.** Oxidative Stress in Half and Full Ironman Triathletes. *Med Sci Sport Exer.* 2007;39(2):283-288.
5. **Warburton D.E.R, Welsh RC, Haykowsky MJ, Taylor DA, Humen D.** Biochemical changes as a result of prolonged strenuous exercise. *Br J Sports Med.* 2002;36:301-303.
6. **Goldfarb, A.** Antioxidants: role of supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sport Exer.* 1993;25(2):345-351.
7. **Ballester M, Honorem VA.** Antioxidantes, radicales libres y salud. Un enfoque químico-orgánico-físico. *Med Clin.* 1996;107:509-515.
8. **Stanner SA, Hughes J, Kelly CN, Buttriss J.** A review of the epidemiological evidence for the 'antioxidant hypothesis'. *Public Health Nutrition.* 2003;7(3):407-422.
9. **Trabera MG.** Relationship of vitamin E metabolism and oxidation in exercising human subjects. *Br J Nutr.* 2006;96:34-37.
10. **Maeshima E, Liang XM, Goda M, Otani H., & Mune M.** The efficacy of vitamin E against oxidative damage and autoantibody production in systemic lupus erythematosus: a preliminary study. *Clin Rheumatol.* 2007;26(3):401-404.
11. **Changa CK, Huangb HY, Tsengc HF, Hsuuud,YD, Tsob TK.** Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. *J Nutr Bioch.* 2007;18(1):39-45.
12. **Patil SM, Chaudhuri D, Dhanakshirur GB.** Role of alpha-tocopherol in cardiopulmonary fitness in endurance athletes, cyclists. *In J Physiol Pharmacol* 2009;53(4):375-9.

13. Rokitzki L, Logemann E, Huber G, Keck E, Keul J. Alpha-Tocopherol supplementation in racing cyclists during extreme endurance training. *International. J Sport Nutr.* 1994;4(3):253-64.
14. Marsh SA, Laursen PB, Coombes JS. Effects of antioxidant supplementation and exercise training on erythrocyte antioxidant enzymes. *Int J Vit Nutr Res.* 2006;76(5):324-31.
15. McAnulty SR, McAnulty LS, Nieman DC, Morrow JD, Shooter LA, Holmes S, Heward C, Henson, D.A. Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. *J Nutr Biochem.* 2005;16(9):530-7.
16. Viitala PE, Newhouse I, LaVoie N, Gottardo C. The effects of antioxidant vitamin supplementation on resistance exercise induced lipid peroxidation in trained and untrained participants. *Lipids Health Dis.* 2004;3(14)1-9.
17. Reeves P, Forrest H, Fahey G. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: Final report of the american institute of nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;93:1939-1951.
18. Coarasa A, Villarroya A, Ros R, Moros M. Respuesta eléctrica en el músculo fatigado. *Arch Med Deporte.* 1989;21:41.
19. Coarasa A, Ros R, Asirón P, Moros M, Villarroya A. Fatiga muscular como factor limitante de esfuerzo. *Arch Med Deporte.* 1994;44:331.
20. Bongbele J, Gutiérrez A. Bases bioquímicas de la fatiga muscular durante esfuerzos máximos de tipo anaeróbico. *Arch Med Deporte.* 1990;25:49.
21. Bryant, R., Ryder, J., Martino, P., Kim, J., Craig, B. Effects of Vitamin E and C Supplementation Either Alone or in Combination on Exercise-Induced Lipid Peroxidation in Trained Cyclists. *J Strength Cond Res.* 2003;17(4):792-800.