



RICYDE. Revista Internacional de
Ciencias del Deporte

ISSN: 1885-3137

ricyde@cafyd.com

Editorial Ramón Cantó Alcaraz
España

Matheus, Nyurky J.; Mendoza, Carmen A.; Meléndez, Carmen; Flores, Celeste A.; Corro,
Ana C.; Medina, Iraima C.; Báez, Edicxon

Entrenamiento Aeróbico: Efecto Sobre el Estado Oxidativo Hepático

RICYDE. Revista Internacional de Ciencias del Deporte, vol. XII, núm. 45, julio, 2016, pp.
309-323

Editorial Ramón Cantó Alcaraz
Madrid, España

Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=71046278007>

- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org

redalyc.org

Sistema de Información Científica

Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal

Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto

Entrenamiento Aeróbico: Efecto Sobre el Estado Oxidativo Hepático **Aerobic Training: Effect on Liver Oxidative Stress**

**Nyurky J. Matheus¹, Carmen A. Mendoza¹, Carmen Meléndez¹, Celeste A. Flores¹, Ana C. Corro¹,
Iraima C. Medina¹, Edixon Báez²**

1. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Venezuela

2. Unidad Educativa Gladys Briceño. Venezuela

Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar en un modelo animal el efecto del entrenamiento aeróbico y del ejercicio eventual sobre el estado oxidativo hepático. Se utilizaron 30 ratones machos NMRI, divididos en 3 grupos de 10: Control (sin ejercicio), Entrenamiento Aeróbico (EA) y Ejercicio Eventual (EE). La actividad física se realizó en una rueda de ejercicio que giraba a 50 rpm/ (30 minutos / día) por 6 semanas para el grupo con EA y a 50 rpm/ 30 minutos, una vez para el EE. Se determinó en sangre la concentración de albúmina, y en hígado se cuantificó la concentración de Dienes Conjugados, Malondialdehído, Glutatión Reducido (GSH), y se realizó el estudio histopatológico. Los resultados muestran que los animales que realizaron EE presentaron un aumento marcado de la lipoperoxidación (LPO) hepática comparado con el grupo control y con los de EA. Con respecto a la respuesta antioxidante, la concentración de GSH aumentó en los animales de EA y disminuyó en los de EE, la albúmina fue menor en los animales que se ejercitaron. El cociente GSH/LPO fue mayor en los animales de EA, lo que indica una disminución de la LPO en relación con la respuesta antioxidante dada por el GSH. Los resultados de este estudio muestran que a pesar de que ocurre un aumento de la lipoperoxidación hepática durante el ejercicio, esta oxidación no altera la estructura histológica del órgano y dependiendo del tipo de ejercicio, el organismo se adapta produciendo aumento de la defensa antioxidante, base esta del entrenamiento.

Palabras clave: Ejercicio aeróbico; estrés oxidativo; hígado.

Abstract

The aim of this study was to evaluate in an animal model the effect of aerobic training on hepatic oxidative status. Control (without exercise) Aerobic Training (EA) and Exercise Eventually (EE): 30 NMRI male mice were divided into 3 groups of 10 were used. Physical activity was conducted in an exercise wheel rotating at 50 rpm / 30 minutes / day / six weeks for the group with AD and 50 rpm / 30 minutes / once for EE. Albumin concentration was determined in blood, liver and the concentration of conjugated diene, malondialdehyde, reduced glutathione (GSH) was measured and histopathological study. The results show that animals made EE showed a marked increase in hepatic lipid peroxidation (LPO) compared with the control group and the EA. Regarding the antioxidant response, the concentration of GSH increased animals decreased in EA and EE and albumin was lower in animals who exercised. The GSH / LPO ratio was greater in animals EA, indicating a decrease in LPO in relation given by the GSH antioxidant response. No liver histopathological changes were observed. The results of this study show that despite an increase in hepatic lipid peroxidation occurs during exercise, this oxidation does not alter the histological structure of the organ and depending on the type of exercise, the body adapts by producing increased antioxidant defense based this training.

Key words: Aerobic training; oxidative stress; liver.

Correspondencia/correspondence: Nyurky Josefina Matheus Cortéz
Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA). Venezuela
Email: nyurkym@ucla.edu.ve

Introducción

El deporte y la actividad física tienen sin duda una influencia social creciente y han experimentado un gran desarrollo en los últimos años, especialmente a finales del siglo XX, producto de un importante número de investigaciones. Ya desde el año 1946 la Organización Mundial de la Salud (OMS), enmarcó la actividad físico-deportiva o ejercicio realizado bajo unos determinados parámetros de frecuencia, intensidad y duración; como un modelo o estilo de vida saludable (OMS, 1946).

Desde el punto de vista fisiológico la investigación en materia de ejercicios ha sido muy prolífica. Hoy en día se conocen los efectos que produce el ejercicio a diversos niveles. No obstante, al considerar el ejercicio como un factor preventivo, e incluso terapéutico, es preciso analizar el tipo y cantidad recomendable, puesto que existen diferentes tipos de ejercicios según el grado de agotamiento, continuidad, tipo de contracción, intensidad y sustrato energético utilizado para realizar el mismo (Gerecke, Kolobova, Allen y Fawer, 2014).

La energía necesaria para la actividad de las miosina-ATPasas y por consiguiente para la contracción muscular, solo se puede obtener del ATP. Éste puede conseguirse a través de varias vías metabólicas, en donde el hígado juega un papel esencial, mediante el almacenamiento de glucógeno. Si el ejercicio es de baja intensidad y la cadena respiratoria de la mitocondria produce suficiente ATP, ésta será la fuente principal de energía. Sin embargo, si el ejercicio es de más alta intensidad y la mitocondria no puede sintetizar todo el ATP necesario que se está catabolizando, entonces se obtiene ATP por otras vías metabólicas (Starkov, 2008; Venditti, Bari, Di Stefano y Di Meo, 2007), siendo en ambos casos, la vía aeróbica, la fuente mayoritaria de ATP.

El ejercicio físico intenso está asociado con el incremento en la generación de radicales libres, principalmente debido al dramático incremento en el consumo de oxígeno (Koçturk, Kayatekin, Resmi, Acikgoz, Kaynak y Ozer, 2008). Este elemento es imprescindible para la vida, el 95% del que consumimos sigue la ruta fisiológica en condiciones normales, el resto sufre sucesivas reducciones donde se generan moléculas altamente tóxicas denominadas especies reactivas del oxígeno (EROs) los cuales forman parte de los llamados radicales libres (Tiidus, Pushkarenko y Houston, 1996). Estos radicales son moléculas inestables y muy reactivas que pueden reaccionar con todas las moléculas del organismo (proteínas, lípidos, ADN), alterando su estructura y su función (Davies, 1995).

Los radicales libres están implicados en numerosos procesos degenerativos, que incluyen el envejecimiento, el cáncer, enfermedades cardiovasculares, arteriosclerosis, enfermedades neurológicas, procesos irritativos de la piel, e inflamaciones. Asimismo, las lesiones por isquemia-reperfusión, se caracterizan también por la formación de radicales libres (Aranda, 2003).

Estas especies tan reactivas, no causan daño oxidativo en condiciones normales debido a que la célula está provista de gran cantidad de mecanismos antioxidantes. Sin embargo, cuando la capacidad de los mecanismos antioxidante se ve superada por las agresiones oxidativas, nos encontramos ante una situación de estrés oxidativo (Ames, 1983).

Las defensas antioxidantes existentes en el cuerpo son suficientes y adecuadas para prevenir un daño oxidativo sustancial a los tejidos, sin embargo, si hay una sobreproducción de radicales libres, o una caída en el nivel de las defensas antioxidantes se conducirá a un desequilibrio, que podría provocar dicho estrés (Ji, 1999).

Aunque la actividad física se sabe que puede tener efectos beneficiosos sobre la salud (Gerecke y col., 2014), estudios han publicado que el ejercicio físico induce la tensión oxidativa, aumentando la generación de Especies Reactivas del Oxígeno (EROs) (Reed y Packer, 1992; Sánchez-Quesada, Holms-Serradesanferm, Serrat-Serrat, Serra-Grima, González-Sastre, Ordóñez-Llanos, 1995; Powers y Jackson, 2008).

La inducción de estrés oxidativo durante el ejercicio físico se ha propuesto como una causa de daño a nivel de la membrana del miocito, lo que conduce a una exacerbada respuesta inflamatoria (Rokitzki, Logemann, Sagredos, Murphy, Wetzel-Roth, y Keul, 1994; McBride, Kraemer, Triplett-McBride y Sebastianelli, 1998), y por consiguiente al padecimiento de excesivo dolor y fatiga muscular posteriores al ejercicio (Reid, 2008; Jammes, Steinberg, Mambrini, Brégeon y Delliaux, 2005). Sin embargo, en la literatura actual existen evidentes discrepancias, tanto en la propia presencia de estrés oxidativo asociado a diferentes esfuerzos, como en los fenómenos adaptativos que podrían resultar si este desequilibrio persiste durante un período determinado. Posiblemente, los principales condicionantes de estas discrepancias son la elevada reactividad y la corta vida media de los radicales libres (Leeuwenburgh y Heinecke, 2001).

La investigación en materia de actividad física, actualmente busca determinar la cantidad de ejercicio necesaria para alcanzar beneficios saludables para el organismo, ya que debemos ser conscientes que un ejercicio o deporte inapropiado o excesivo puede ser perjudicial para la salud. Si bien es cierto, el ejercicio físico prolongado o extremo según Bruguera (2004), no es un factor que cause agresión sobre el hígado, se conoce que el ejercicio reduce el flujo sanguíneo hepático (Hultman, 1966), y por estar éste órgano involucrado en las rutas metabólicas para el aporte de energía durante el ejercicio, este estudio tiene como objetivo evaluar en un modelo animal el efecto del entrenamiento aeróbico y del ejercicio eventual sobre el estado oxidativo hepático.

Método

Animales y Diseño Experimental

Se utilizaron 30 ratones machos de la cepa NMRI no consanguíneos (Nacional Medicine Research Institute), con un peso promedio de 50 g y 49 días de edad, suministrados por el Bioterio Central de la UCLA, Los animales fueron mantenidos bajo condiciones ambientales estables en la Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales “Dr. Haity Moussatché” del Decanato de Ciencias Veterinarias de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA) según lo establecido en el Código de Ética para la Vida de la República Bolivariana de Venezuela (2010) en su segunda parte capítulo 3. El agua y alimento (ratarina) se proporcionó *ad-libitum*.

Procedimiento

Los animales experimentales se dividieron en tres grupos de 10: Grupo Control (C), Grupo con Ejercicio Aeróbico Crónico o Entrenamiento Aeróbico (EA) y Grupo con Ejercicio Aeróbico Agudo o Ejercicio Eventual (EE). El grupo control no se sometió a ningún tipo de ejercicio. Para los grupos de ejercicio físico, este se consiguió colocando a cada ratón en una rueda de ejercicio conectada a una correa sin fin movida por un motor eléctrico, la cual se hacía girar a 50 rpm durante 30 minutos, diariamente por 6 semanas para el grupo de EA y por 30 minutos una sola vez para el grupo EE. Ambos grupos de ejercicios realizaron la actividad física 30 minutos antes del sacrificio.

A la sexta semana bajo ligera eterización los animales se sacrificaron, se recolectó una muestra de sangre sin anticoagulante, mediante fino corte de la vena caudal y se separó el suero por centrifugación a 800 x g durante 20 minutos en una microcentrifuga refrigerada Eppendorf modelo 5402 de Brinkman Instr. (Westbury, NY, USA), para las determinaciones serológicas de albúmina.

Asimismo, a través de la vena porta se lavó el hígado con una solución fisiológica de EDTA al 10%, a 4°C, para evitar que la hemoglobina interfiriera en los resultados de MDA y que el hierro hemático elevara los niveles basales de estrés oxidativo. Cada hígado fue disecado y pesado en una balanza analítica Sauter (Alemania), se registró su aspecto macroscópico y de cada uno se obtuvieron 2 porciones o muestras. Una se colocó en formol Bufferado al 10% y trasladado al Laboratorio de Diagnóstico del Área de Patología del Hospital Veterinario “Dr. Humberto Ramírez Daza” del Decanato de Ciencias Veterinarias de la UCLA para el estudio Histopatológico y la otra muestra se colocó en buffer Tris-Sacarosa 250 mM pH 7,2 a 4°C, diluida 3 veces su peso, para posteriormente ser homogeneizada en un Potter. El homogeneizado obtenido fue mantenido en hielo y en el sobrenadante se determinó la concentración de MDA, Dienes conjugados, Glutación reducido y proteínas totales. Todas las lecturas espectro-fotométricas se realizaron en un Genesys 5 (Rochester, NY, USA).

Indicadores de lipoperoxidación hepática

Dienes conjugados (DC)

Se determinó por el método descrito por Wallin, Rosengren, Shertzer y Camejo (1993). El producto coloreado se leyó a una longitud de onda de 232 nm. Los resultados se expresaron como moles de DC/mg proteína x 10⁻⁵ y moles de DC/g tejido húmedo x 10⁻⁵.

Malondialdehído (MDA)

Se determinó por el Test para sustancias reaccionantes con el ácido 2-tío barbitúrico (TBARS) de acuerdo a la técnica de Ohkawa, Ohishi, y Yagi, (1979). El producto coloreado se midió a una longitud de onda de 532 nm. Los resultados se expresaron como nmoles de MDA/mg proteínas y nmoles de MDA/g tejido húmedo.

Marcadores antioxidantes no enzimáticos

Glutación reducido hepático

Se determinó mediante el Kit de Calbichem (La Jolla CA, USA), cuyo fundamento se basa en la formación de enlaces tioéster entre un cromógeno (R1) y todos los mercaptanos (RSH) presentes en la muestra a una temperatura de 25°C por 10 minutos en la oscuridad. La absorbancia se leyó a una longitud de onda de 400 nm. La concentración se calculó de acuerdo con el instructivo del Kit. Los resultados fueron expresados en µm/mg de proteína.

Albumina sérica

La concentración de albúmina se determinó por el método colorimétrico, mediante el Kit Wiener Lab, Proti 2 (Rosario, Argentina). Se leyó su absorbancia a una longitud de onda de 625 nm. Los resultados quedaron expresados en g/dl de albúmina.

Cociente GSH/LPO

Se utilizó como exponente de una visión de conjunto de la relación entre la respuesta al estrés oxidativo por parte del principal antioxidante intracelular (GSH) y los marcadores de la lipoperoxidación (LPO) MDA y DC expresados en mg de proteína.

Proteínas totales

Las proteínas totales se determinaron mediante el kit Bio Rad (Richmond, CA, USA) basado en el método de Bradford (1976). Se utilizó como estándar una solución madre de 1,41 mg / ml de albúmina sérica bovina.

Estudio histopatológico

Las muestras fueron fijadas con formol Bufferado al 10% y trasladadas al Laboratorio de Diagnóstico del Área de Patología del Hospital Veterinario “Dr. Humberto Ramírez Daza” del Decanato de Ciencias Veterinarias de la UCLA en donde trascurridas 48 horas de fijación, se cortaron en fragmentos de aproximadamente 1 x 0,5 x 0,5 cm, debidamente identificados, se colocaron en sus respectivas cápsulas de tejido para ser introducidos en el procesador automatizado de tejidos (CitadelR 2000) por un período de 18 horas (Edna, 1995). Posteriormente se prepararon los bloques de parafina de cada muestra (Bob, 1995), a partir de los cuales, mediante el uso del micrótopo (Leica RM2125, EUA), se obtuvieron cortes de 5 micras.

Una vez efectuado el corte, las películas de tejidos se colocaron sobre una lámina portaobjeto para ser coloreadas mediante la técnica de coloración Hematoxilina–Eosina (H&E) (Thomas, 1995) en cortes por congelación. Cada preparado histológico se examinó en toda su extensión. Se utilizó el objetivo 10X y 40X de un microscopio óptico marca Olympus (BX 40).

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados por el paquete estadístico SPSS, versión 15.0 para Windows, mediante las pruebas ANOVA, se realizó comparaciones múltiples (DMS) y Correlación de Pearson ($p < 0.05$).

Resultados

Indicadores de estrés oxidativo hepático

La lipoperoxidación cuantificada por los niveles de dienos conjugados y malondialdehído, se muestran en las figuras 1 y 2. En este estudio se encontró que los animales sometidos a ejercicio eventual o agudo (EE), es decir, a un carrera a 50 rpm sin un entrenamiento previo por 30 minutos, presentaron un aumento marcado de la lipoperoxidación hepática cuantificada como nmoles de dienos conjugados y nmoles de malondialdehído ($p \leq 0,01$), cuando se comparan con el grupo de animales que se ejercitaron el mismo tiempo diariamente pero durante 6 semanas (EA) y con el grupo control. Sin embargo, en estos dos últimos grupos (control y EA) hay un leve efecto oxidativo ($p \leq 0,05$) tal y como se muestra en las figuras 1 y 2.

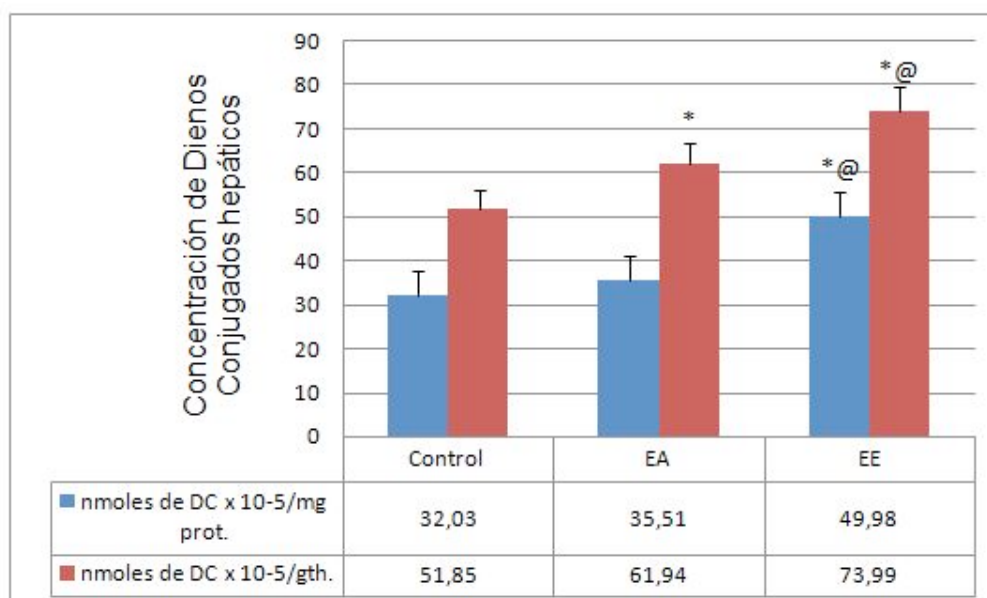


Figura 1. Efecto del tipo de ejercicio sobre los indicadores de lipoperoxidación hepática, cuantificada como nmoles de Dienes Conjugados (DC) en ratones NMRI. EA: Grupo con Ejercicio Aeróbico Crónico o Entrenamiento Aeróbico, realizado en una rueda de ejercicio a 50 rpm por 30 minutos diariamente durante 6 semanas. EE: Grupo con Ejercicio Aeróbico Agudo o Ejercicio Eventual, realizado a 50 rpm por 30 minutos una sola vez. El grupo control no se sometió a ningún tipo de ejercicios. Los resultados se expresan como nmoles DC x 10⁻⁵/mg de proteínas y nmoles de DC x 10⁻⁵/gramos de tejido húmedo (gth) y representan la media ± la desviación estándar de 10 animales por grupos. *p<0,05 comparado con el valor control. @p<0,05 comparado con el valor del grupo EA.

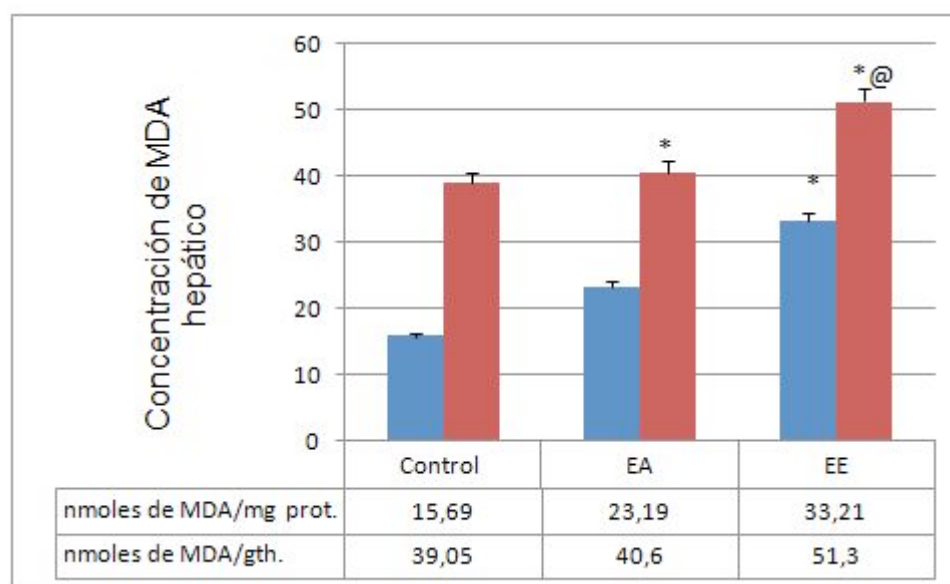


Figura 2. Efecto del tipo de ejercicio sobre la los indicadores de lipoperoxidación hepática, cuantificada como nmoles de Malondialdehído (MDA) en ratones NMRI. EA: Grupo con Ejercicio Aeróbico Crónico o Entrenamiento Aeróbico, realizado en una rueda de ejercicio a 50 rpm por 30 minutos diariamente durante 6 semanas. EE: Grupo con Ejercicio Aeróbico Agudo o Ejercicio Eventual, realizado a 50 rpm por 30 minutos una sola vez. El grupo control no se sometió a ningún tipo de ejercicios. Los resultados se expresan como nmoles de MDA/mg de proteínas y nmoles de MDA/gramos de tejido húmedo (gth) y representan la media ± la desviación estándar de 10 animales por grupos. *p<0,05 comparado con el valor control. @p<0,05 comparado con el valor del grupo EA.

Marcadores antioxidantes no enzimáticos

Para contrarrestar el efecto de los radicales libres sobre biomoléculas como los lípidos poliinsaturados, el organismo se vale de mecanismos antioxidantes. En este estudio encontramos que el tipo de ejercicio afecta la concentración hepática del antioxidante no enzimático glutatión reducido. Este efecto fue antagónico entre los grupos que se ejercitaron con respecto al grupo que no se ejercitó o grupo control, presentando un aumento en su concentración los animales entrenados diariamente por 30 minutos a un ritmo de 50 rpm ($p \leq 0,05$), mientras que los animales que realizaron ejercicio eventual sin entrenamiento previo (50 rpm/ una sola vez) presentaron una disminución de este antioxidante intracelular ($p \leq 0,01$) (Ver figura 3).

Por otra parte, la concentración sérica de albúmina disminuyó en ambos grupos de animales ejercitados con respecto al grupo control, encontrándose una disminución mas acentuada en el grupo de entrenamiento aeróbico (figura 4).

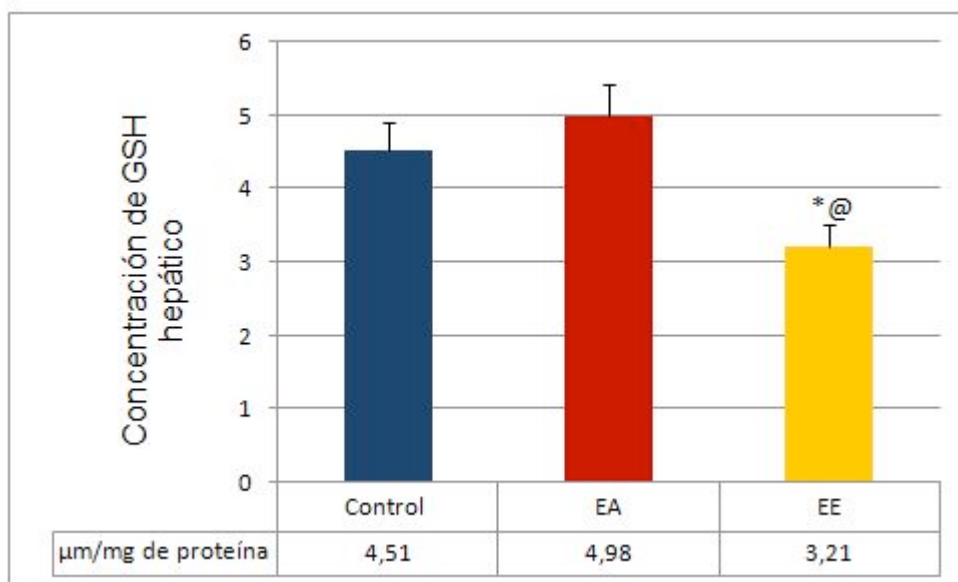


Figura 3. Efecto del tipo de ejercicio sobre la concentración de glutatión reducido (GSH) hepático como marcador antioxidante no enzimático en ratones NMRI. EA: Grupo con Ejercicio Aeróbico Crónico o Entrenamiento Aeróbico, realizado en una rueda de ejercicio a 50 rpm por 30 minutos diariamente durante 6 semanas. EE: Grupo con Ejercicio Aeróbico Agudo o Ejercicio Eventual, realizado a 50 rpm por 30 minutos una sola vez. El grupo control no se sometió a ningún tipo de ejercicios. Los resultados se expresan como µm/mg de proteína y representan la media $\pm$ la desviación estándar de 10 animales por grupos. * $p < 0,05$ comparado con el valor control. @ $p < 0,05$ comparado con el valor del grupo EA.

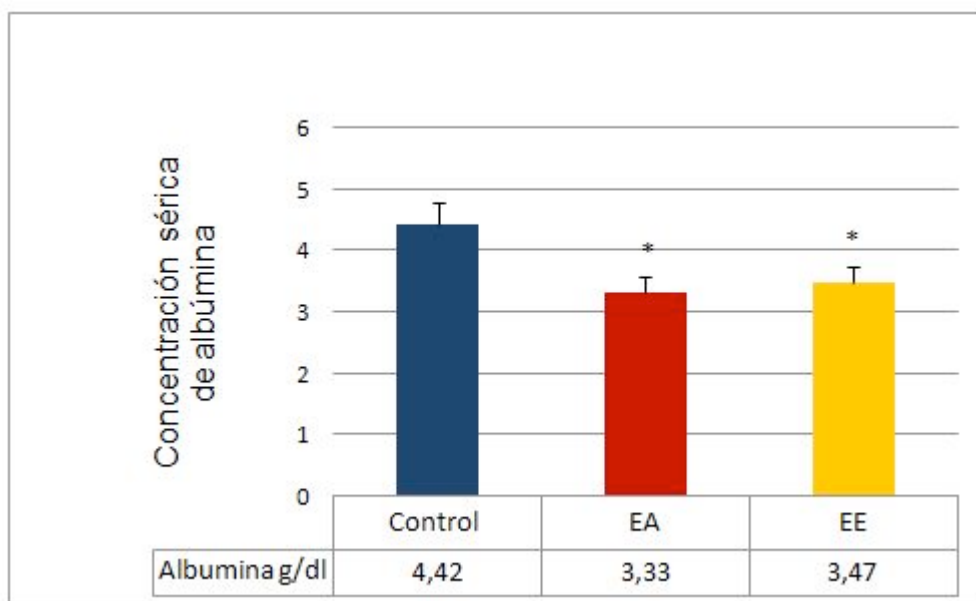


Figura 4. Efecto del tipo de ejercicio sobre la concentración sérica de albúmina en ratones NMRI. EA: Grupo con Ejercicio Aeróbico Crónico o Entrenamiento Aeróbico, realizado en una rueda de ejercicio a 50 rpm por 30 minutos diariamente durante 6 semanas. EE: Grupo con Ejercicio Aeróbico Agudo o Ejercicio Eventual, realizado a 50 rpm por 30 minutos una sola vez. El grupo control no se sometió a ningún tipo de ejercicios. Los resultados se expresan como g/dl y representan la media $\pm$ la desviación estándar de 10 animales por grupos. * $p < 0,05$ comparado con el valor control. @ $p < 0,05$ comparado con el valor del grupo EA.

Cociente GSH/LPO

Encontramos que el cociente de la relación GSH/MDA y GSH/DC por mg de proteínas fue menor en los animales sometidos a ejercicio eventual, no encontrándose diferencias significativas entre el grupo control y los animales sometidos a entrenamiento aeróbico (Ver tabla I). Lo que indica que al disminuir el cociente aumenta el estrés oxidativo, presentando por lo tanto un aumento del estrés oxidativo el grupo que realizó ejercicio eventual o una vez sin previo entrenamiento.

Tabla 1. Nivel del Cociente GSH/DC y GSH/MDA en hígado de ratones NMRI sometidos a diferentes tipos de ejercicios.

	Control	EA	EE
GSH/nmoles DC x 10^{-5} /mg prot.	$0,14 \times 10^{-5} \pm 0,01 \times 10^{-5}$	$0,14 \times 10^{-5} \pm 0,014 \times 10^{-5}$	$0,06 \times 10^{-5} \pm 0,002 \times 10^{-5}^{*@}$
GSH/nmoles MDA /mg prot.	$0,28 \pm 0,0093$	$0,20 \pm 0,018$	$0,08 \pm 0,009^{*@}$

EA: Grupo con Ejercicio Aeróbico Crónico o Entrenamiento Aeróbico, realizado en una rueda de ejercicio a 50 rpm por 30 minutos diariamente durante 6 semanas. EE: Grupo con Ejercicio Aeróbico Agudo o Ejercicio Eventual, realizado a 50 rpm por 30 minutos una sola vez. El grupo control no se sometió a ningún tipo de ejercicios. Los resultados representan la media $\pm$ la desviación estándar del cociente de la relación GSH/LPO de cada uno de los animales. * $p < 0,05$ comparado con el valor control. @ $p < 0,05$ comparado con el valor del grupo EA.

Estudio Histopatológico

El estudio histopatológico reveló que el entrenamiento aeróbico (ejercicio aeróbico crónico) y el ejercicio aeróbico eventual (sin entrenamiento previo) no alteran la histopatología hepática, ya que las células conservan sus características normales y la arquitectura del parénquima hepático mantiene su uniformidad (Figura 5).

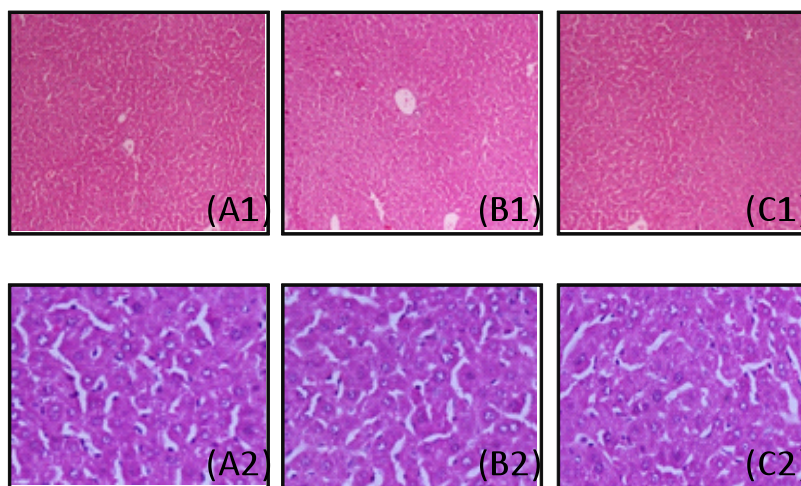


Figura 5. Fotomicrografías de cortes de hígado de ratón con hígado normal. H-E. A: Control. B: Entrenamiento aeróbico. C: Ejercicio eventual. (1): 10X, (2): 40X.

Discusión

Los resultados de este estudio muestran que los animales sometidos a ejercicio de trote eventual por 30 minutos, presentaron un aumento en la lipoperoxidación hepática cuantificada como nmoles de dienos conjugados y nmoles de MDA, comparados con los animales que se entrenaron el mismo tiempo diariamente durante 6 semanas. Es importante destacar que si bien es cierto que los animales entrenados presentaron una menor lipoperoxidación hepática esta fue mayor que la cuantificada para el grupo control que no fue sometido a ningún tipo de ejercicio, lo que indica que las características del ejercicio podrían potenciar la actividad de fuentes generadoras de EROs. Estos resultados pueden deberse a que durante el ejercicio se incrementa la demanda de energía por los músculos en contracción, situación que promueve el aumento de la producción hepática de glucosa a partir principalmente de la glucogenólisis (solamente entre un 10-20 % es aportada por la gluconeogénesis) (Wahren, Felig, Ahlborg y Jorfeldt, 1991; Wasserman, Williams, Lacy, Green, y Cherrington, 1988). Según Ahlborg y Felig (1982), Kjaer, Engfred, Fernandes, Secher y Galbo (1993), la producción de glucosa hepática aumenta en relación lineal con la intensidad del ejercicio, aumentando dos a tres veces con respecto a su valor de reposo, en ejercicios leves a moderados (menos de 30 minutos) y de siete a diez veces en ejercicios intensos.

Este aumento del metabolismo hepático provoca que durante la glucogenólisis hepática, una parte de la glucosa 6-fosfato sintetizada, entre a la ruta de las pentosas fosfato y/o de la glicólisis, rutas que generarán dos donantes de electrones muy energéticos, el NADH y el FADH₂. Los electrones de estos donantes se transfieren a través de una cadena de transporte electrónico hasta el O₂, que se ve reducido para formar agua (Packer, Maguire, Mehlhorn, Serbinova y Kagan, 1989) y un pequeño porcentaje de electrones se escapan de manera prematura al O₂, dando lugar a la formación del radical libre O₂^{•-} que puede oxidar los lípidos poliinsaturados de la membrana celular de los hepatocitos (Batandier, Guigas, Detaille, El-Mir, Fontaine, Rigoulet y Leverve, 2006).

La idea clásica que propone la hipereactividad mitocondrial como la principal fuente de EROs durante el ejercicio, ha sido progresivamente sustituida en las últimas décadas por una teoría más amplia, que considera la participación de diferentes fuentes metabólicas de EROs (Fernández, Da Silva-Grigolettob y Túnez-Fiñanac, 2009), así tenemos que en ejercicios intensos y de corta duración, es decir, con un metabolismo energético en el que aparece una participación mayor del metabolismo anaeróbico, el flujo sanguíneo se redistribuye hacia el músculo en contracción y hacia los tejidos prioritarios, como el corazón y el cerebro, sometiendo a otros órganos como los riñones, el bazo e incluso el hígado, a periodos de hipoxia (Duncker y Bache, 2008).

Según Gavarry y Falgairette (2004), una vez que finaliza la contracción muscular, los tejidos sometidos a hipoxia recuperan el flujo sanguíneo de manera brusca, recibiendo de esta manera un gran aporte de oxígeno, este fenómeno recibe el nombre de “isquemia-reperusión” y es, en importancia la segunda fuente de producción de EROs inducida por el ejercicio.

La activación del sistema xantino-oxidasa (XO) en los tejidos reperfundidos, cataliza la formación de $O_2^{\bullet -}$ en presencia de oxígeno, hipoxantina y xantina como sustratos para la reacción (Saltin y Astrand, 1967). En los tejidos no hipóxicos este sistema enzimático se encuentra en la forma de xantino-deshidrogenasa (XD), principalmente involucrado en la formación de ácido úrico, pero puede fácilmente ser convertido a XO durante la isquemia-reperusión (Fernández, Ulate y Hernández, 1994).

Por otra parte, estos resultados podrían deberse al hecho de que existe una fuente no regulada de EROs, responsables de la producción de estas especies reactivas, de forma espontánea y de manera dosis-dependiente a los estímulos que la activan. Uno de estos estímulos es el ejercicio y cuya producción según Finaud, Lac y Filaire (2006), dependerá de las características del propio ejercicio (por ejemplo la intensidad, la duración, el tipo de contracción muscular), así como las condiciones ambientales en las que se entrena (dieta, temperatura, presión de oxígeno, entre otras) las cuales podrían potenciar la actividad de estas fuentes de generación de EROs y determinar un fallo o insuficiencia de los mecanismos capaces de contrarrestar su formación, conduciendo a un daño molecular y estrés oxidativo.

Es importante hacer mención que los oxidantes pueden modular una serie de vías de señalización celular y regular la expresión de múltiples genes en células eucariotas. Este cambio oxidante media en la expresión de genes relacionados con la transcripción, la estabilidad del mRNA, y los niveles de transducción de señales. Además, numerosos productos asociados con genes modulados por oxidantes han sido identificados e incluyen enzimas antioxidantes, proteínas de estrés, proteínas de reparación del ADN y proteínas de transporte de electrones mitocondriales. Curiosamente, se requieren niveles bajos y fisiológicos de las EROs para la producción de fuerza normal en el músculo esquelético, pero altos niveles de estas especies reactivas promueven la disfunción contráctil que resulta en debilidad muscular y fatiga (Powers y Jackson, 2008).

En este mismo orden de ideas, Garatachea, García-López, Bernal, Almar y González-Gallego (2012), reportan que el ejercicio extenuante agudo, produce daño oxidativo extenso no sólo por el aumento del estrés oxidativo sino también por la disminución en la capacidad de defensa antioxidante. Asimismo, Bloomer (2008), demuestra que tras una sesión aguda de ejercicio físico capaz de provocar estrés oxidativo se observan diferentes respuestas en los marcadores de daño molecular y de defensa antioxidante, analizadas tanto en muestras de sangre como en tejidos.

La generación de EROs se puede manifestar en daño oxidativo a distintos niveles como el músculo esquelético, cardíaco, hígado y sangre (Jenkins, 1988; Sjödin, Hellsten y Apple, 1990; McArdle, Khera, Edwards y Jackson, 1999; Bouzid, Hammouda, Matran, Robin y Fabre, 2014). Sin embargo, en este estudio se evidencia que a pesar del aumento de la lipoperoxidación hepática, en los animales sometidos a ejercicio el estudio histopatológico evidenció que el tejido hepático mantiene las características histológicas normales.

De manera general, se conoce que los efectos de los radicales libres son contrarrestados por los mecanismos de defensa antioxidantes. Estos mecanismos pueden ser enzimáticos y no enzimáticos. Dentro de estos últimos tenemos, entre otros, el GSH (Glutación reducido) y la albúmina. El GSH es el principal compuesto antioxidante intracelular y tiene un papel central, actuando indirectamente como sustrato para la GPx o directamente eliminando las EROs y reciclando los compuestos oxidados resultantes de la interacción (Fernández y col., 2009).

En esta experimentación se encontró que el tipo de ejercicio afecta la concentración hepática de GSH. Este efecto fue antagónico entre los grupos que se ejercitaron con respecto al grupo que no se ejercitó o grupo control, presentando un aumento en su concentración los animales entrenados diariamente 30 minutos por 6 semanas, mientras que los animales que realizaron ejercicio una sola vez y sin entrenamiento previo presentaron una disminución de este antioxidante intracelular.

La disminución en la concentración del GSH en los animales sometidos a ejercicio puede ser debido a que las EROs oxidan el GSH a GSSG, por lo que el estrés oxidativo puede resultar en una reducción de las reservas celulares de GSH y/o un aumento de las concentraciones de GSSG. Por ello, el GSH y el ratio GSH/GSSG son indicadores de gran interés en la determinación de la respuesta frente al estrés oxidativo, con especial especificidad para el estrés oxidativo inducido por el ejercicio (Steinberg, Delliaux y Jammes, 2006). Milanez, Ramos, Okuno, Boullosa y Nakamura (2014), indican que el ejercicio extenuante sin previo entrenamiento realizado en humanos, produce un aumento de la actividad de las enzimas SOD, GPx y GReductasa y aumento de MDA.

Sin embargo, otros investigadores demuestran en sus estudios experimentales en animales, que la práctica regular de ejercicio produce un aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes (Arquer, Elousa, y Marrugat, 2010). Por otra parte, Ji y Fu (1992), en un estudio realizado en ratas reportan que el glutatión reducido luego de someter a los animales a ejercicio exhaustivo aumenta a nivel muscular y disminuye a nivel hepático.

Por otra parte, la concentración sérica de albúmina disminuyó en ambos grupos de animales ejercitados, encontrándose una disminución mayor en el grupo de entrenamiento. Es importante destacar que aunque hubo una disminución en la concentración sérica de albúmina de los animales ejercitados con respecto al grupo control, esta se encuentra dentro de los valores referenciales para la especie. Estos resultados coinciden con los reportados por López-Rodríguez y Suárez-Dieguez (2010), quienes indican que la albúmina posee una alta capacidad antioxidante y durante esta actividad se produce fragmentación de su molécula en péptidos de bajo peso molecular, lo que podría explicar la disminución en la concentración sérica encontrada en este estudio, siendo mayor la disminución en los animales con menores indicadores de estrés oxidativo.

Como se mencionó anteriormente, los mecanismos de defensa antioxidante contrarrestan los efectos de los radicales libres. En este estudio se utilizó el cociente de la relación GSH/MDA y GSH/DC como exponentes de una visión de conjunto de la relación entre la respuesta al estrés oxidativo por parte del principal antioxidante intracelular (GSH) y los marcadores de la

lipoperoxidación MDA y DC. Los resultados muestran que el cociente de la relación GSH/MDA y GSH/DC por mg de proteínas fue menor en los animales sometidos a ejercicio extenuantes, no encontrándose diferencias significativas entre el grupo control y los animales sometidos a ejercicio moderado-continuo (Ver tabla I). Lo que indica que al disminuir el cociente aumenta el estrés oxidativo, presentando por lo tanto un menor índice de estrés oxidativo el grupo que realizó entrenamiento aeróbico por 6 semanas, por lo que se podría pensar como describió Lamb en el año 1978 que el ejercicio físico sea cual sea su intensidad, produce una situación de estrés y que esta situación provoca una serie de respuestas a nivel fisiológico y orgánico a través de mecanismos neuro-endocrino-metabólicos, con el fin de mantener la homeostasis y el equilibrio en el organismo. Si esta situación de estrés se repite de forma periódica y controlada, el organismo se adaptará, constituyendo esto la base del entrenamiento.

Conclusión

Nuestros resultados muestran que a pesar de que ocurre un aumento de la lipoperoxidación hepática durante el ejercicio, esta oxidación no altera la estructura histológica del órgano y dependiendo del tipo de ejercicio, el organismo se adapta produciendo aumento de la defensa antioxidante, base esta del entrenamiento.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento a los miembros de la Unidad de Investigación en Ciencias Funcionales Dr. Haity Moussachét, en especial al Sr. Orlando Linarez por su dedicación en el manejo de los animales.

Referencias

- Ahlborg, G., & Felig, P. (1982). Lactate and glucose exchange across the forearm, legs, and splanchnic bed during and after prolonged exercise. *Journal of Clinical Investigation*, 69, 45-54.
<http://dx.doi.org/10.1172/JCI110440>
- Ames, B. N. (1983). Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. *Science*, 221(1), 256-64.
<http://dx.doi.org/10.1126/science.6351251>
- Aranda, M. R. (2003). Efectos del ejercicio físico agotador sobre el estrés oxidativo asociado al envejecimiento. [Tesis Doctoral]. Valencia: Universitat de Valencia. Obtenido en marzo, 07, 2016, disponible en:
<http://roderic.uv.es/handle/10550/15102>.
- Arquer, A.; Elousa, R., & Marrugat, J. (2010). Actividad física y estrés oxidativo. *Apunts mede sport*. 45(165), 31-40.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.apunts.2009.12.002>
- Batandier, C.; Guigas, B.; Demaille, D.; El-Mir, M. Y.; Fontaine, E.; Rigoulet, M., & Leverve, X. M. (2006). The ROS production induced by a reverse-electron flux at respiratory-chain complex 1 is hampered by metformin. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 38(1), 33-42.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10863-006-9003-8>
- Bouazid, M.; Hammouda, O.; Matran, R.; Robin, S., & Fabre, C. (2014). Changes in oxidative stress markers and biological markers of muscle injury with aging at rest and in response to an exhaustive exercise. *Plos One*, 9(3), e90420.
<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0090420>
- Bruguera, M. (2004). Hígado y deporte. *Medicina Clinica (Barc)*, 122(3), 111-4.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7753\(04\)74159-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0025-7753(04)74159-7)

- Davies, K. J. (1995). Oxidative stress. The paradox of aerobic life. *Biochemical Society Symposium*, 6, 1-31.
<http://dx.doi.org/10.1042/bss0610001>
- Duncker, D. J., & Bache, R. J. (2008). Regulation of coronary blood flow during exercise. *Physiological reviews*, 88(3), 1009-86.
<http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00045.2006>
- Fernández, A.; Ulate, M., y Hernández, R. (1994). Factores asociados a la presión arterial en la niñez: resistencia cardiovascular, peso y obesidad. *Archivos de Medicina del Deporte*, 11,13-19.
- Fernández, J. M.; Da Silva-Grigolettob, M. E., y Túnez-Fiñanac, I. (2009). Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*, 2(1), 19-34.
- Finaud, J.; Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36(4), 327-58.
<http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00045.2006>
- Garatachea, N.; García-López, D.; Bernal, A.; Almar, M., & González-Gallego, J. (2012). 'Oxidative stress response to isometric exercise in women: Effect of age and exercise intensity. *International Sportmed Journal*, 13(3), 85-95.
- Gavarry, O., & Falgairette, G. (2004). L'activité physique habituelle au cours du développement. *Revista Canadienne de Physiologie Appliquée*, 29, 201-214.
<http://dx.doi.org/10.1139/h04-015>
- Gerecke, K.; Kolobova, A.; Allen, S., & Fawer, J. (2013). Exercise protects against chronic restraint stress-induced oxidative stress in the cortex and hippocampus. *Brain Research*, 1509, 66-78.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2013.02.027>
- Hultman, E. (1966). Blood circulation in the liver under physiological and pathological conditions. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 18(92), 27-41.
- Jammes, Y.; Steinberg, J. G.; Mambrini, O.; Brégeon, F., & Delliaux, S. (2005). Chronic fatigue syndrome: assessment of increased oxidative stress and altered muscle excitability in response to incremental exercise. *Journal of Internal Medicine*, 257(3), 299-310.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2796.2005.01452.x>
- Jenkins RR. (1988). Free Radical Chemistry, Relationship to Exercise. *Sports Medicine*, 5(3), 156-70.
<http://dx.doi.org/10.2165/00007256-198805030-00003>
- Ji L, Fu R. (1992). Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *Journal Of Applied Physiology*, 72(2), 549-554.
- Ji, L. L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 222, 283-292.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1525-1373.1999.d01-145.x>
- Kjaer, M.; Engfred, K.; Fernandes, A.; Secher, N.H., & Galbo, H. (1993). Regulation of hepatic glucose production during exercise in humans: role of sympatho-adrenergic activity. *The American Journal of Physiology*, 265, E275-E283.
- Koçturk, S.; Kayatekin, B. M.; Resmi, H.; Acikgoz, O.; Kaynak, C., & Ozer, E. (2008). The apoptotic response to strenuous exercise of the gastrocnemius and soleus muscle fibers in rats. *European Journal of Applied Physiology*, 102, 515-524.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00421-007-0612-7>

- Lamb, D. R. (1978). Fisiología del ejercicio. Madrid: Pila AE, 17-23.
- Leeuwenburgh, C., & Heinecke, J. W. (2001). Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Current Medicinal Chemistry*, 8(7), 829-38.
<http://dx.doi.org/10.2174/0929867013372896>
- López-Rodríguez, G., y Suárez-Díez, T. (2010). La albúmina y la transferrina son antioxidantes que previenen la lipoperoxidación in vitro. *Revista Latinoamericana de Química*, 38(3), 159-167.
- McArdle, A.; Khera, G.; Edwards, R. H., & Jackson, M. J. (1999). In vivo microdialysis-A technique for analysis of chemical activators of muscle pain. *Muscle Nerve*, 22, 1047-52.
[http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4598\(199908\)22:8<1047::AID-MUS6>3.0.CO;2-Q](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-4598(199908)22:8<1047::AID-MUS6>3.0.CO;2-Q)
- McBride, J.M.; Kraemer, W. J.; Triplett-McBride, T., & Sebastianelli, W. (1998). Effect of resistance exercise on free radical production. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 30(1), 67-72.
<http://dx.doi.org/10.1097/00005768-199801000-00010>
- Milanez, V.; Ramos, S.; Okuno, N.; Boullosa, D., & Nakamura, F. (2014). 'Evidence of a Non-Linear Dose-Response Relationship between Training Load and Stress Markers in Elite Female Futsal Players', *Journal Of Sports Science & Medicine*, 13(1), 22-29.
- Ohkawa, H.; Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Annals of Biochemistry*, 95, 351-358.
[http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- Organización Mundial de la Salud. (1946). Carta Constitucional. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- Packer, L.; Maguire, J. J.; Mehlhorn, R. J.; Serbinova, E., & Kagan, V. E. (1989). Mitochondria and microsomal membranes have a free radical reductase activity that prevents chromanoxyl radical accumulation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 159(1), 229-35.
[http://dx.doi.org/10.1016/0006-291X\(89\)92427-3](http://dx.doi.org/10.1016/0006-291X(89)92427-3)
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88, 1243-1276. <http://dx.doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Reed, P., & Packer, L. (1992). Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *The Journal of Nutrition*, 122, 766-773.
- Reid, M. B. (2008). Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radical Biology Medicine*, 44(2), 169-79.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.002>
- Rokitzki, L.; Logemann, E.; Sagredos, A. N.; Murphy, M.; Wetzel-Roth, W., & Keul, J. (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiology Scandinavian*, 151(2), 149-58.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-1716.1994.tb09732.x>
- Saltin, B., & Astrand, P. O. (1967). Maximal oxygen uptake in athletes. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 23(3), 353-358.
- Sánchez-Quesada, J. L.; Holms-Serradesanferm, R.; Serrat-Serrat, J.; Serra-Grima, J. R.; González-Sastre, J. & Ordoñez-Llanos, J. (1995). Increase of LDL susceptibility to oxidation occurring after intense, long duration aerobic exercise. *Atherosclerosis*, 118, 297-305.
[http://dx.doi.org/10.1016/0021-9150\(95\)05617-3](http://dx.doi.org/10.1016/0021-9150(95)05617-3)

- Sjödin, B.; Hellsten, W.Y., & Apple, F. S. (1990). Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Medicine*, 10(4), 236-54. <http://dx.doi.org/10.2165/00007256-199010040-00003>
- Starkov, A. A. (2008). The role of mitochondria in reactive oxygen species metabolism and signaling. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1147(37), 52-54.
- Steinberg, J. G.; Delliaux, S., & Jammes, Y. (2006). Reliability of different blood indices to explore the oxidative stress in response to maximal cycling and static exercises. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 26(2), 106-12. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1475-097X.2006.00658.x>
- Tiidus, P. M.; Pushkarenko, J., & Houston, M. E. (1996). Lack of antioxidant adaptation to short-term aerobic training in human muscle. *American Journal Physiology*, 271, R832-6.56
- Venditti, P.; Bari, A.; Di Stefano, L. & Di Meo, S. (2007). Role of mitochondria in exercise-induced oxidative stress in skeletal muscle from hyperthyroid rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 463, 12-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2007.02.004>
- Wahren, J.; Felig, P.; Ahlborg, G. & Jorfeldt, L. (1971). Glucose metabolism during leg exercise in man. *The Journal of Clinical Investigation*, 50, 2715-2725. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI106772>
- Wallin, B. B.; Rosengren, H.; Shertzer, G & Camejo. 1993. Lipoprotein oxidation and measurement of thiobarbituric acid reacting substances formation in a single microtiter plate: Its use for evaluation of antioxidants. *Anal Biochemical*, 208, 10-15. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1993.1002>
- Wasserman, D. H.; Williams, P. E.; Lacy, D. B.; Green, D. R. & Cherrington, A. D (1988). Importance of intrahepatic mechanisms to gluconeogenesis from alanine during exercise and recovery. *American Journal Physiology*, 254, 13518-13525.