

# Comportamiento del balance oxidación/antioxidación durante la prueba de esfuerzo en individuos obesos

*Behavior of oxidation/antioxidation balance during stress test in obese individuals*

Clímaco Cano, Valmore Bermúdez, Mayerlim Medina, Aida Souki, Andreina Prado, Raquel Cano, Anilsa Amell, Alexandra Toledo, Marjorie Villalobos, Fernando Bermúdez.  
climacoc@hotmail.com

Recibido: 20/05/2013

Aceptado: 20/08/2013

## Resumen Abstract

El elevado consumo de oxígeno por el corazón y el músculo esquelético durante la actividad física los hace vulnerables a la acción de los radicales libres de oxígeno. En el individuo obeso metabólicamente sano, por razones inherentes a su exceso de masa corporal o por razones bioquímicas puede incrementarse la peroxidación lipídica, y en consecuencia el riesgo de daño tisular.

El comportamiento de algunos parámetros representativos del balance oxidación/antioxidación como el malondialdehído (MDA), óxido nítrico (ON), glutatión reducido (GSH), ácido ascórbico (Asc), fue evaluado durante la prueba de esfuerzo en diez individuos jóvenes obesos (IMC  $33,1 \pm 0,7$  Kg/m<sup>2</sup>) y como grupo control otros once individuos dentro del mismo rango de edades con peso normal (IMC  $22,3 \pm 0,3$  Kg/m<sup>2</sup>).

Durante la prueba de esfuerzo fue observado en el grupo de individuos obesos un incremento significativo en los niveles séricos del MDA con relación al grupo control. No fueron detectados cambios significativos a lo largo de la prueba en los niveles de GSH, Asc y ON. No fueron observados cambios electrocardiográficos de ambos grupos.

Podemos concluir que durante la prueba de esfuerzo en el grupo de individuos obesos metabólicamente sanos, se incrementa la peroxidación lipídica dentro de los parámetros fisiológicos, sin cambios en los valores de los marcadores de antioxidación ni en los parámetros electrocardiográficos.

**Palabras Clave:** Malondialdehído, balance oxidación/antioxidación, Obesidad, Prueba de Esfuerzo.

Elevated oxygen consumption by heart and skeletal muscle during physical activity makes them vulnerable to free oxygen radicals. In metabolically healthy obese patients, due to increased body mass or for biochemical reasons, lipid peroxidation can increase and consequently also increase risk for tissue damage.

Behavior of certain oxidation/antioxidation parameters such as malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO), reduced glutathione (GSH) ascorbic acid (Asc), were evaluated during stress test in ten young obese subjects (BMI  $33,1 \pm 0,7$  Kg/m<sup>2</sup>), using as control group eleven other subjects within the same age range with normal weight (BMI  $22,3 \pm 0,3$  Kg/m<sup>2</sup>).

During stress test, a significant increase in MDA serum levels was observed in obese subjects when compared to control group. No significant changes in GSH, Asc and NO serum levels were detected during stress test. No electrocardiographic changes were observed in either group.

We can conclude that during stress test in metabolically healthy obese subjects, an increase in lipid peroxidation within physiological ranges occurs, without changes in antioxidation markers serum values or in electrocardiographic parameters.

**Key Words:** Malondialdehyde, Oxidation/antioxidation Balance, Obesity, Stress Test.

# Introducción

La contractilidad del músculo cardíaco y el músculo esquelético requieren de un aporte energético constante, en el que los combustibles glucosa y/o ácidos grasos, deben ser oxidados hasta  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  a nivel mitocondrial, utilizando el oxígeno como aceptor final de los electrones transportados por la cadena respiratoria. Como es ampliamente conocido, el ejercicio incrementa el consumo de oxígeno como consecuencia de la acumulación de ADP, por lo cual debe incrementarse el aporte de sangre arterial al tejido muscular esquelético y cardíaco<sup>1</sup>.

El incremento en el aporte de oxígeno aumenta la probabilidad de formación de radicales libres de oxígeno y en consecuencia el riesgo de peroxidación lipídica, que afecta la permeabilidad y funcionamiento de las membranas biológicas, en las que el acortamiento de los ácidos grasos de cadena corta genera malondialdehído (MDA), el cual es altamente reactivo en especial con las proteínas. Para compensar la peroxidación lipídica, los tejidos disponen de una serie de mecanismos antioxidantes, entre los cuales figura el sistema vitamina E, ácido ascórbico (Asc), glutatión reducido (GSH), el cual está acoplado con la enzima glutatión reductasa y la vía de las pentosas como generadora de  $\text{NADPH} + \text{H}^{+2}$ .

Por otro lado la óxido nítrico sintasa (NOS) en cualquiera de las tres isoformas de la enzima: endotelial (eNOS), inducible (iNOS) y neuronal (nNOS) presentes tanto en corazón como el músculo esquelético pueden generar Óxido Nítrico (ON), que además de regular diversas funciones en ambos tejidos tiene también efecto antioxidante, ya que es capaz de fijar el radical superóxido, transformándose en peroxinitrito, el cual a su vez paradójicamente, puede generar radical hidroxilo que es el más agresivo de los radicales libres de oxígeno<sup>3</sup>.

La obesidad además de ser un factor de riesgo para el establecimiento de diversas patologías endocrino-metabólicas, puede afectar la función cardíaca a nivel molecular y/o físico, alterando o no el ECG durante la prueba de esfuerzo. El propósito de esta investigación fue estudiar el comportamiento de marcadores moleculares de oxidación como el MDA y del sistema antioxidante como el ácido ascórbico, el glutatión reducido y el óxido nítrico, en individuos obesos sometidos a una prueba de esfuerzo máxima con protocolo de Bruce.

## Pacientes y Métodos

Un total de 21 voluntarios jóvenes de sexo masculino, con edades comprendidas entre 18 y 22 años, fueron clasificados de acuerdo al índice de masa corporal (IMC) como obesos ( $\text{IMC } 33 \pm 0,7 \text{ Kg/m}^2$   $n=10$ ) y con peso normal ( $\text{IMC } 22 \pm 0,3 \text{ Kg/m}^2$   $n=11$ ). A todos los participantes en el estudio se les realizó historia clínica y nutricional, y electrocardiograma (ECG) de 12 derivaciones en reposo.

Con el fin de verificar la normalidad de los indicadores metabólicos, fue tomada una muestra de sangre en ayunas para determinar hematología, glicemia, insulina, HOMA, colesterol total, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, HDL-colesterol, triacilglicéridos, ácido úrico, urea y creatinina (Ver tabla 1). Como criterios de exclusión fueron considerados la presencia de hipertensión arterial, dislipidemias, diabetes mellitus, alteraciones de la glándula tiroidea, alteraciones en el ECG en reposo e ingestión regular de bebidas alcohólicas. El uso de medicamentos antioxidantes fue suspendido 15 días antes de comenzar el estudio.

Previo ayuno de 12 horas, los sujetos fueron sometidos a una prueba de esfuerzo en banda con protocolo de Bruce. Se suspendió la prueba cuando el individuo había realizado el esfuerzo máximo tolerable, cuando se alcanzó la frecuencia cardíaca máxima esperada para la edad, si se presentaban alteraciones electrocardiográficas o ante manifestaciones clínicas como dolor torácico. Se tomaron muestras de sangre basal y a los 3, 6, 9 y 12 minutos durante la prueba de esfuerzo, para determinar malondialdehído (MDA), óxido nítrico (ON), ácido ascórbico (Asc) y glutatión reducido (GSH).

La determinación de la concentración sérica de MDA se realizó utilizando el método colorimétrico del ácido tio-barbitúrico o TBA modificado (TBARS)<sup>4</sup> la concentración sérica de óxido nítrico mediante la técnica de diazotización o ensayo de ácido sulfanílico el cual determina ON de forma indirecta a través de la cuantificación de los nitritos inorgánicos<sup>5</sup>; para la determinación de la concentración sérica de ácido ascórbico se utilizó el método de Schwarz y Williams<sup>6</sup>, y el glutatión reducido en eritrocito mediante el kit colorimétrico del GSH-400 Assay tm (Oxis Internacional Inc, Missouri, EUA), todos ellos como indicadores del balance oxidación y antioxidación.

### Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 17.0 para Windows. Para determinar diferencias significativas entre los grupos se aplicó la prueba t de Student no pareada. Para comparar los resultados obtenidos en cada grupo entre sí, antes de tratamiento y luego 3, 6, 9 y 12 minutos durante la prueba de esfuerzo se utilizó el modelo general lineal de medidas repetidas. Los resultados

fueron expresados como promedio  $\pm$  error estándar siendo consideradas significativas las diferencias cuando  $p < 0,05$ .

## Resultados

### Prueba de esfuerzo

La prueba de esfuerzo máxima con protocolo de Bruce se suspendió en un paciente del grupo control y dos del grupo de obesos por haber alcanzado la frecuencia cardíaca máxima esperada para la edad, por lo cual se excluyeron del estudio. En ningún sujeto estudiado se observó alteraciones electrocardiográficas durante la prueba de esfuerzo.

### Malondialdehído

No fueron observadas diferencias significativas en los valores basales de MDA al comparar los dos grupos en estudio. Se encontraron diferencias significativas al comparar los valores de MDA controles con los del grupo de Obesos a los 3, 6, 9 y 12 minutos de la prueba de esfuerzo.

Al comparar los niveles basales del grupo control con los observados a lo largo de la prueba de esfuerzo no hubo diferencia significativa mientras que en el grupo de individuos obesos los valores de MDA sufrieron un incremento significativo a los 6, 9 y 12 min con relación a su valor basal. (Ver tabla 2 y gráfico 1).

### Óxido Nítrico

Los valores basales de ON fueron significativamente superiores en el grupo de individuos obesos al compararlos con el control. Durante la prueba de esfuerzo los valores de ON tanto del grupo control como del grupo de obesos, no sufrieron cambios significativos al compararlos con sus respectivas cifras basales. Al comparar los valores de ON de ambos grupos durante la prueba de esfuerzo, tampoco fueron observadas diferencias significativas. (Ver tabla 3 y Gráfico 2).

### Ácido Ascórbico

Los valores basales de Asc no fueron significativamente diferentes en el grupo de individuos obesos al compararlos con el control. Durante la prueba de esfuerzo los valores de Asc tanto del grupo control como del grupo de obesos, no sufrieron cambios significativos al compararlos con sus respectivas cifras basales. Al comparar los valores de Asc de ambos grupos durante la prueba de esfuerzo, tampoco fueron observadas diferencias significativas. (Ver tabla 4 y Gráfico 3).

### Glutacion reducido

Los valores basales de GSH no fueron significativamente diferentes en el grupo de individuos obesos al compararlos con el control. Durante la prueba de esfuerzo los valores de GSH tanto del grupo control como del grupo de obesos, no sufrieron cambios significativos al com-

pararlos con sus respectivas cifras basales. Al comparar los valores de GSH de ambos grupos durante la prueba de esfuerzo, tampoco fueron observadas diferencias significativas. (Ver tabla 5 y Gráfico 4).

Tabla N° 1. Características de los pacientes

	Grupo Control n=10	Grupo Obesos n=8
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	22,3 $\pm$ 0,1	32,1 $\pm$ 0,1
Circunferencia de Cintura (cm)	85,2 $\pm$ 0,2	105,2 $\pm$ 5,0
Presión Arterial Sistólica (mmHg)	110,0 $\pm$ 3,0	113,0 $\pm$ 5,0
Presión Arterial Diastólica (mmHg)	80,0 $\pm$ 0,5	83,0 $\pm$ 0,5
Glicemia (mg/dl)	75,0 $\pm$ 2,0	77,0 $\pm$ 2,0
Insulina (mUI/ml)	8,3 $\pm$ 0,8	9,9 $\pm$ 0,7
HOMA-IR	1,64 $\pm$ 0,02	2,1 $\pm$ 0,1
Colesterol Total (mg/dl)	180,0 $\pm$ 8,0	182,0 $\pm$ 7,0
Colesterol HDL (mg/dl)	52,0 $\pm$ 3,0	50,0 $\pm$ 2,1
Ácido Úrico (mg/dl)	4,1 $\pm$ 0,1	4,7 $\pm$ 0,1
Urea (mg/dl)	25,3 $\pm$ 0,4	23,3 $\pm$ 0,4
Creatinina (mg/dl)	0,7 $\pm$ 0,05	0,8 $\pm$ 0,02

Tabla N° 2. Comportamiento del Malondialdehído sérico durante prueba de esfuerzo en Obesos

MDA	CONTROL n=10 mM	OBESOS n=8 mM	p
Basal	0,59 $\pm$ 0,1	0,64 $\pm$ 0,12	NS
3 min	0,61 $\pm$ 0,13	0,89 $\pm$ 0,19	0,003
6 min	0,65 $\pm$ 0,31	1,4 $\pm$ 0,5	0,002
9 min	0,71 $\pm$ 0,46	1,7 $\pm$ 0,55	0,001
12 min	0,54 $\pm$ 0,11	1,93 $\pm$ 0,11	0,0001

NS= No significativo.

Tabla N° 3. Comportamiento del Óxido Nítrico sérico durante prueba de esfuerzo en Obesos

ON	CONTROL n=10 mM	OBESOS n=8 mM	p
Basal	17,3 $\pm$ 2,5	19,7 $\pm$ 1,7	0,04
3 min	18,5 $\pm$ 1,8	19,9 $\pm$ 2,3	NS
6 min	18,4 $\pm$ 1,7	18,7 $\pm$ 1,6	NS
9 min	18,8 $\pm$ 1,5	19,1 $\pm$ 1,5	NS
12 min	19,1 $\pm$ 1,6	19,1 $\pm$ 1,8	NS

NS= No significativo.

Tabla N° 4. Comportamiento del Ácido Ascórbico sérico durante prueba de esfuerzo en Obesos

Ácido Ascórbico	CONTROL n=10 mg/dl	OBESOS =8 mg/dl	p
Basal	0,89 $\pm$ 0,05	0,93 $\pm$ 0,08	NS
3 min	0,86 $\pm$ 0,06	0,93 $\pm$ 0,08	NS
6 min	0,91 $\pm$ 0,05	0,83 $\pm$ 0,06	NS
9 min	0,86 $\pm$ 0,07	0,83 $\pm$ 0,05	NS
12 min	0,9 $\pm$ 0,06	0,81 $\pm$ 0,06	NS

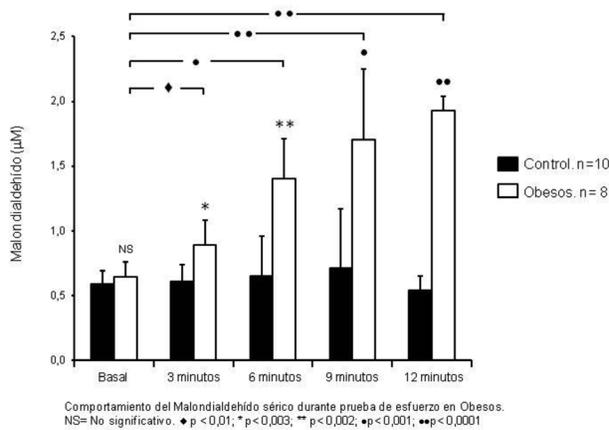
NS= No significativo.

**Tabla N° 5. Comportamiento del Glutation Reducido durante prueba de esfuerzo en Obesos**

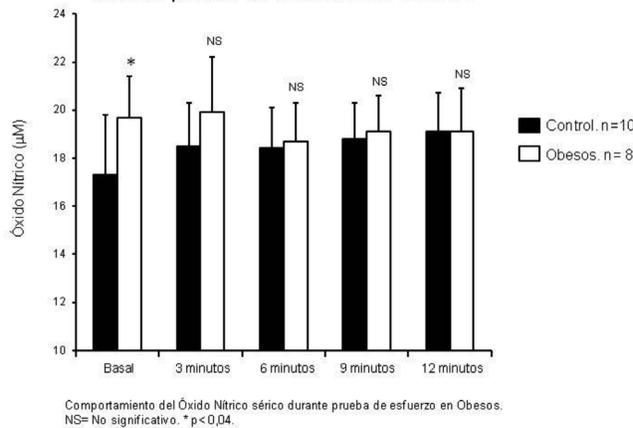
GSH	CONTROL n=10 mg/dl	OBESOS n=8 mg/dl	p
Basal	216,0 ± 12,0	212,0 ± 14,9	NS
3 min	206,6 ± 5,5	206,3 ± 4,3	NS
6 min	204,8 ± 5,6	201,3 ± 4,0	NS
9 min	211,6 ± 4,7	203,3 ± 4,2	NS
12 min	208,3 ± 4,0	200,0 ± 4,4	NS

NS= No significativo.

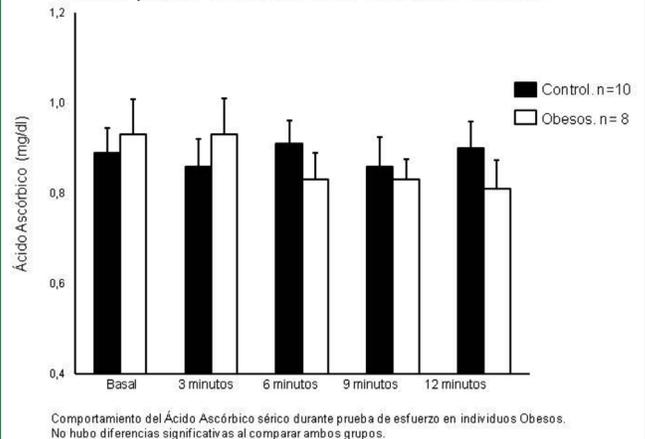
**Gráfico N° 1. Comportamiento del Malondialdehído sérico durante prueba de esfuerzo en Obesos**



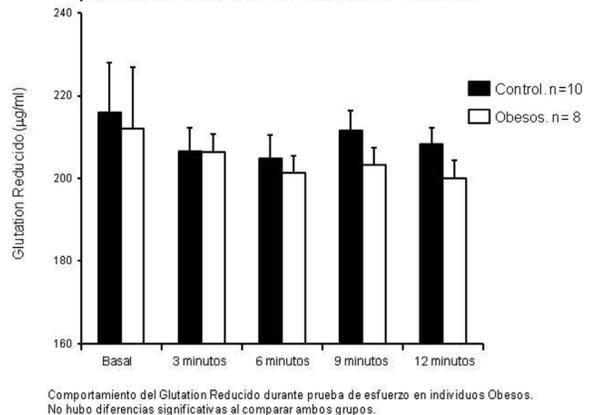
**Gráfico N° 2. Comportamiento del Óxido Nítrico sérico durante prueba de esfuerzo en Obesos**



**Gráfico N° 3. Comportamiento del Ácido Ascórbico sérico durante prueba de esfuerzo en individuos Obesos**



**Gráfico N° 4. Comportamiento del Glutation Reducido durante prueba de esfuerzo en individuos Obesos**



## Discusión

Los resultados del presente estudio, indican que durante la prueba de esfuerzo, el grupo de individuos obesos metabólicamente normales experimenta un incremento de la peroxidación lipídica, reflejada en el aumento de las cifras de MDA en comparación con sus propias cifras basales y con los valores observados en el grupo control a lo largo de la prueba de esfuerzo.

El MDA puede derivar del tejido muscular esquelético o de músculo cardíaco en los cuales el consumo de oxígeno por demanda energética se incrementa significativamente durante el ejercicio<sup>7</sup>. El hecho de que no se observara en los individuos obesos cambios en los niveles de Asc, GSH, como marcadores representativos del sistema antioxidante vitamina E, Asc, GSH, indica que los incrementos en la peroxidación lipídica están dentro de los límites fisiológicamente tolerables como lo demuestran las cifras de MDA que no superan el valor de 2,0 µM.

El ON cumple diversas funciones reguladoras similares en músculo esquelético y cardíaco, en este último puede además, regular el tono de los vasos coronarios, la trombogénesis, los mecanismos proliferativos e inflamatorios, así como la contractilidad del cardiomiocito<sup>8</sup>. La propiedad antioxidante es una de las más importantes ya que el ON puede capturar el radical superóxido y generar peroxinitrito<sup>3,9</sup>. En el presente estudio los niveles basales de ON de los individuos obesos son significativamente superiores a los observados en el grupo control, hallazgo que coincide con lo reportado por Souki y col. en niños obesos<sup>10</sup>.

El ON circulante en condiciones basales proviene fundamentalmente del endotelio vascular por la actividad de la eNOS y puede contribuir junto con los otros mecanismos antioxidantes a mantener un balance oxidación/antioxidación adecuado tanto para el músculo esquelético como para el músculo cardíaco<sup>11</sup>, ya que la iNOS es expresada fundamentalmente en los cardiomiocitos y estimulada por citocinas inflamatorias liberadas por células del sistema inmunitario en caso de injuria tisular severa<sup>12</sup>.

El incremento exagerado en la síntesis de ON puede ejercer efectos nocivos en el cardiomiocito ya que la elevada formación de peroxinitrito por la captura del radical superóxido, puede convertir al peroxinitrito por la reacción de Fenton en fuente de radical hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ), causando severos daños especialmente a las membranas biológicas. Una exagerada producción de ON por la iNOS disminuye la producción de ATP por los cardiomiocitos, ya que el ON al fijarse al Fe+2 del grupo hemo de los citocromos bloquea la cadena respiratoria<sup>13</sup>.

Todas estas razones explican por qué los niveles de ON se mantienen sin cambios a lo largo de la prueba de esfuerzo en los individuos obesos y que el incremento en los niveles de MDA sin sobrepasar los límites fisiológicos, aunque no representa peligro alguno pues se trata de obesos bioquímicamente sanos (que no presentan insulino-resistencia, alteraciones tiroideas, alteraciones hematológicas, hipertensión arterial), puede ser significativo durante la evolución de la obesidad a etapas donde hagan su aparición alguna o todas las patologías mencionadas. Es posible que la disminución en la disponibilidad de antioxidantes como el Asc y el GSH durante el ejercicio, puedan aumentar la actividad de la iNOS con efectos deletéreos para el tejido cardíaco.

En conclusión durante la prueba de esfuerzo realizada en individuos obesos metabólicamente normales y sin patologías asociadas, no se observaron cambios en el ECG, pero si un incremento en los valores del MDA a lo largo de la prueba sin superar los límites fisiológicos, sin variaciones significativas en las concentraciones de óxido nítrico, ácido ascórbico y glutatión reducido.

## Referencias

1. Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79 (3): 675-686.
2. Gomes EC, Silva AN, de Oliveira MR. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxid Med Cell Longev*. 2012; 2012: Article ID 756132, 12 pages.
3. Grisham MB, Jour'd'Heuil D, Wink DA. Nitric oxide. I. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation. *Am J Physiol* 1999; 276: G315-G321.
4. Draper HH, Squires EJ, Mahmoodi H, Wu J, Agarwal S, Hadley M. A comparative evaluation of thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials. *Free Radic Biol Med* 1993; 15: 353-363.
5. Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models. *FASEB J* 1993; 7: 349-360.
6. Strohecker R, Henning HM. Vitamina C. Análisis de Vitaminas: Métodos comprobatorios. 1ra Ed. Ed. Paz Montalvo, Madrid, 276-308 pp. 1966
7. Bloomer RJ, Fisher-Wellman KH. Blood Oxidative Stress Biomarkers: Influence of Sex, Training Status, and Dietary Intake. *Gevid Med*. 2008; S:218-228.
8. Zaobornyj T, Ghafourifar P. Strategic localization of heart mitochondrial NOS: a review of the evidence. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2012; 303(11): H1283-1293.
9. Brüne B, Zhou J. Nitric oxide and superoxide: Interference with hypoxic signaling. *Cardiovasc Res* 2007; 75 (2): 275-282.
10. Souki y col.
11. Chen AF, Chen DD, Daiber A, Faraci FM, Li H, Rembold CM, Lather I. Free radical biology of the cardiovascular system. *Clin Sci (Lond)*. 2012; 123(2): 73-91.
12. Xia Z, Vanhoutte PM. Nitric oxide and protection against cardiac ischemia. *Curr Pharm Des* 2011; 17(18): 1774-1782.
13. Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. *Physiol Rev* 2007; 87(1): 315-424.