

Influencia del ejercicio y la gestación sobre los parámetros del estrés oxidativo en rata

P. López Luna¹, R. Bernardo¹ y E. Herrera²

1. Departamento de Fisiología y Farmacología, Universidad de Alcalá. 2. Facultad de CC. Experimentales y Técnicas, Universidad San Pablo (CEU)

PALABRAS CLAVE: Ejercicio, Gestación, Estrés oxidativo, Rata.

INTRODUCCIÓN

El estrés oxidativo en células y tejidos se produce como consecuencia de una aumentada producción de metabolitos activos y derivados del oxígeno (MADO) y radicales libres y/o por una disminución en las defensas antioxidantes.

En el organismo existen dos tipos de sistemas antioxidantes: los enzimáticos y los no enzimáticos. Entre los primeros se encuentra la superóxido dismutasa (SOD; EC 1.15.1.1), la catalasa (CT; EC 1.11.1.6), la glutatión peroxidasa (GPx; EC 1.11.1.9), y la glutatión reductasa (GR; EC 1.6.4.2), y entre los no enzimáticos se encuentran, las vitaminas C y E, glutatión y ácido úrico.

Las defensas antioxidantes tratan de eliminar radicales libres antes de que puedan reaccionar con las moléculas orgánicas susceptibles de oxidarse. A pesar de la efectividad de las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa para eliminar H₂O₂, puede ocurrir que parte de ese agua oxigenada y del O₂ generados por los sistemas biológicos no sean atrapados por las defensas antioxidantes e interaccionen con trazas metálicas para dar lugar al radical °OH (1). El radical °OH así formado reacciona principalmente con los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, generando peróxidos lipídicos.

El ejercicio incrementa el consumo de oxígeno y, consecuentemente, la producción de radicales libres y de MADO responsables del estrés oxidativo. A su vez, se conoce que el ejercicio aumenta la sensibilidad insulínica en condiciones en que ésta se encuentra reducida, como sucede en la diabetes tipo II, no dependiente de insulina. Durante la gestación, la madre desarrolla una intensa hiperlipidemia y resistencia a la insulina (2), y en nuestro laboratorio hemos demostrado recientemente que el ejercicio en la rata gestante revierte la resistencia a la insulina (3).

En base a estos antecedentes, en el presente trabajo nos ha interesado estudiar el posible efecto de la coincidencia de estas dos situaciones, el ejercicio y la gestación, sobre parámetros relacionados con el estrés oxidativo tales como el grado de peroxidación lipídica y las actividades de la SOD y de la GPx en hígado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los animales utilizados en este trabajo han sido ratas *v. Wistar*, que se distribuyeron en 4 grupos experimentales: 1) Ratas vírgenes que fueron sometidas a un ejercicio aerobio diario sobre una cinta rodante con 10° de pendiente, a una velocidad de 20 m/min durante tres semanas a razón de 5 días/semana, incrementándose progresivamente el ejercicio hasta un máximo de 75 min/día (VE); 2) Ratas preñadas al día 20 de gestación que fueron sometidas al mismo protocolo de ejercicio desde el día en que aparecieron espermatozoides en el frotis vaginal (GE); 3) Vírgenes controles (V) y 4) Preñadas controles (G), que fueron estudiadas en paralelo con las ratas sometidas a ejercicio.

A todos los animales se les controló el peso corporal y la ingesta a lo largo del estudio, sacrificándose por decapitación el día 20 del experimento. Inmediatamente después se practicó una incisión ventromedial perfundiéndose el hígado con solución salina, el cual se extrajo e introdujo en N₂ líquido, almacenándose a -80°C hasta la valoración de SOD, (4), GPx (5), Se-glutatión peroxidasa (6). Asimismo se valoró la concentración de los productos derivados de la peroxidación lipídica mediante el ensayo del ácido Tiobarbitúrico (TBARS) (7).

RESULTADOS

El peso corporal materno expresado como % del valor al día 0 de gestación aumentó de

forma progresiva y significativa a partir del día 6. El ejercicio no modificó este parámetro en ninguno de los grupos estudiados, ni tampoco afectó al peso y n.º de fetos.

Dada la conocida hiperfagia que presenta la madre durante la gestación, era importante conocer si el ejercicio modificaba la ingesta. Nuestros resultados muestran que el ejercicio no produce cambios significativos en la ingesta de ratas vírgenes y preñadas.

Como se muestra en las figuras adjuntas la actividad de la superóxido dismutasa hepática (SOD) (Fig. 1) fue similar en ratas V y G controles, y mientras que el ejercicio no la modificó en V, produjo un incremento significativo en G.

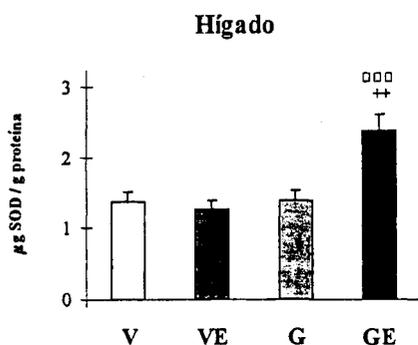


Fig. 1.—Actividad superóxido dismutasa. Actividad específica Cu/Zn SOD en hígado.

La actividad glutatión peroxidasa total (GPx) (Fig. 2) fue superior en G que en V controles, y el ejercicio produjo un incremento similar en ambos grupos. Sin embargo, la acti-

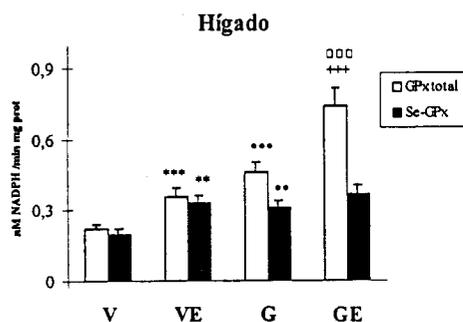


Fig. 2.—Actividad glutatión peroxidasa total (GPx) y Se-Glutatión peroxidasa (Se-GPx) e hígado.

vidad Se-glutation peroxidasa (Se-GPx) fue más elevada en G que en V controles, y mientras el ejercicio produjo un incremento en V, no la modificó en G, llegándose a igualar las diferencias.

La concentración de productos derivados de la peroxidación lipídica (TBARS) en hígado fue similar en V y G controles, y el ejercicio produjo un incremento similar en ambos grupos.

	V vs VE	V vs G	VE vs GE	G vs GE
p<0.05	*	•	□	+
p<0.01	**	••	□□	++
p<0.001	***	•••	□□□	+++

DISCUSIÓN

Los presentes resultados muestran que el protocolo de ejercicio durante la gestación no produce efectos perjudiciales en el peso materno y fetal, lo cual concuerda con los resultados de otros autores (8, 9). Es un hecho conocido que durante la gestación la madre incrementa la ingesta (10), con objeto de aumentar las disponibilidades de sustratos incluso por encima de las necesidades del feto. Nuestros animales comían "ad libitum", y el ejercicio no indujo un cambio en la ingesta de las ratas gestantes ni en la de las vírgenes.

Aunque está claramente establecido que el ejercicio induce la formación de radicales libres en músculo e hígado (11), así como peroxidación lipídica, la magnitud de este daño depende de la intensidad y del modelo de ejercicio.

La actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en hígado no varía como consecuencia del ejercicio en el grupo de ratas vírgenes, y estos resultados concuerdan con los de Ji y col. (1990) (12) obtenidos en hígado de ratas vírgenes sometidas también a ejercicio. Sin embargo, aquí hemos observado que la actividad SOD hepática aumenta con el ejercicio en el grupo de gestantes, y esta variación podría deberse a la superposición de los efectos metabólicos de ambas condiciones, ejercicio y gestación.

Nuestros datos muestran también que la actividad hepática de la glutatión peroxidasa total (GPx total) y de la Se-glutation peroxidasa (Se-GPx), aumenta con el ejercicio tanto en el grupo de las ratas vírgenes como en el de

las gestantes, aunque en el caso de estas últimas el efecto es sólo significativo para la actividad GPx total. A su vez la gestación "per se" también produce un aumento en la actividad de la GPx total en hígado, y ello podría ser consecuencia del aumento en el consumo de oxígeno que ocurre en esta situación (13).

Nosotros hemos determinado la susceptibilidad a la peroxidación lipídica en hígado mediante la valoración de TBARS, que es un índice indirecto del estrés oxidativo en los tejidos, y proporcional al balance entre las especies reactivas del oxígeno y las defensas antioxidantes de los mismos. Hemos observado que la peroxidación lipídica en hígado aumentó con el ejercicio tanto en las ratas vírgenes como en las gestantes. Los datos existentes en la bibliografía sobre peroxidación lipídica y ejercicio son controvertidos, existiendo algunos autores (14 y 15) que observan un incremento en los productos de peroxidación lipídica, mientras que otros (16, 17, 18) no encuentran variación. De hecho esta variabilidad de resultados podría ser consecuencia de una respuesta contrapuesta de unos tejidos a otros como resultado del mismo estímulo. De cualquier forma, dado que existe durante o después del ejercicio un incremento de la concentración de productos lipídicos de naturaleza variable, sería necesario determinar otros metabolitos generados durante reacciones oxidativas para llegar a conclusiones más definitivas.

Aunque en las ratas gestantes no observamos variación en la concentración hepática de TBARS, aquí hemos visto que si que se produce un incremento en la actividades de enzimas antioxidantes hepáticas, y ello podría ser una defensa ante el estrés oxidativo.

El incremento que aquí hemos observado con el ejercicio en las ratas gestantes, en los parámetros de peroxidación lipídica y en las actividades de enzimas antioxidantes concuerdan con el mayor consumo de oxígeno que se puede producir ante la sumación de estas dos situaciones biológicas: gestación y ejercicio.

En conclusión aunque los presentes resultados muestran que estrés oxidativo en las ratas controles es superior en G que en V, el ejercicio no produce un efecto claramente diferenciado entre ambos grupos. Cabe especular que esta respuesta de la rata gestante al ejercicio esté relacionada con el efecto que éste ejerce revirtiendo su resistencia insulínica, lo cual puede disminuir las tendencias hiperlipémicas de la madre.

- Halliwell, B & Auroma, O. I. 1991. DNA damage by oxygen-derived species: Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* 281: 9-19.
- Catalano, P. M.; Tyzbird, E. D.; Calles, J.; Roman, N. M.; Amini, S. B. & Simms, E. A. 1993. Carbohydrate metabolism during pregnancy in control subjects and women with gestational diabetes. *Am. J. Physiol.* 264. E60-E67.
- Lopez-Luna, P.; Muñoz, C.; Iglesias, M. A.; Martínez, S.; Herrera, E. 1995. Reversion de la resistencia insulínica de la gestación por efecto del ejercicio en la rata. IX Congreso de la Asociación Latinoamericana de Diabetes. *Revista de la Asociación Latinoamericana de diabetes.* III. (2). 1995.
- Marklund, S & Marklund, G. 1974. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 469.
- Lawrence, R. A. & Burk, R. F. 1976: Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71: 952-958.
- Pagly, C. A. & Valentine, W. N. 1976. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.* 70: 158-169.
- Uchiyama, M. & Mihara, M. 1978. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test. *Analyt. Biochem.* 86: 271-277.
- Treadway, J. L. & Young, J. C. 1989. Decreased glucose uptake in the fetus after maternal exercise. *Med. and Sci. in Sports and Exercise.*
- Criswell, D.; Powers, S.; Dodd, S.; Lawer J.; Edwards, W.; Renshler, K. & Grinton, S. 1993. High intensity trainin-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25: 1135-1140.
- Champigny, O.; Hitier, Y. & Bourdel, G. 1980. Influence d'un regime hyperlipidique sur la lipogense, la mise en réserve et l'utilisation des lipides chez la ratte gestante. *J. Nutr.* 110: 610-615.
- Lew, H.; Pyke, S. & Quintanilha, A.T. 1985: Changes in glutathione status in plasma, liver, and muscle following exhaustive exercise. *FEBS Lett.* 185: 262-266.
- Ji, L. L.; Dillon, D. & Wu, E. 1990. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. *Am. J. Physiol.* 258: 918-923.
- Gorski, J. 1985. Exercise during pregnancy maternal and fetal responses. *Agriy review. Med. Sci. Sports Exerc.*, 17 (4): 407-416.
- Dillard, C. J.; Litvo, R. E.; Savin, W. M.; Dumelin, E. E. & Tappel, A. L. 1978. Effect of exercise, vitamin E, and ozono on pulmonary function and lipid peroxidation. *J. Appl. Physiol.* 45: 927-932.
- Allesio, H. M.; Goldfare, H. A. & Cutler, R.G. 1988. MDA contenti increases in fast and slow-twitch skeletal muscle with intensyty of exercice in rat. *Am. J. Physio.* 255 (*Cell Physiol.* 24): 874-877.
- Lovlin, R.; Cottle, W.; Pyke, I.; Kavanagh, M. & Belcastro, N. 1987. Are indices of free radical damage related to exercise intensity?. *Eur. J. Appl: Physiol. Occup. Physio.* 56: 313-316.
- Jenkins, R. R. 1988. Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sport. med.* 5: 156-170
- Vignie, Ca.; Frei, B., Shigenaga, M. K.; Ames, B. N.; Packer, L. & Brooks, G. A. 1993. Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *J. Appl. Physiol.* 75: 556-572.