

Monograph

Diferencias Raciales en la Evolución en el Tiempo de las Respuestas de Estrés Oxidativo frente al Ejercicio Agudo

Deborah L Fearheller¹, Keith M Diaz¹, Kathleen M Sturgeon¹, Sheara T Williamson¹ y Michael D Brown^{1,2}

¹Hypertension, Molecular and Applied Physiology Laboratory, Department of Kinesiology.

²Cardiovascular Research Center, School of Medicine, Temple University, Philadelphia, PA, Estados Unidos.

RESUMEN

Los afro-americanos tienen niveles desproporcionados de enfermedad cardiovascular y estrés oxidativo. El propósito de nuestro trabajo fue estudiar las diferencias raciales entre adultos afro-americanos y caucásicos en la evolución en el tiempo de las respuestas al estrés oxidativo frente a un test en cinta rodante. Después de un ayuno de 12 horas, 18 participantes (9 de cada grupo étnico; $21 \pm 0,4$ años) realizaron un test submáximo en cinta rodante y se les realizó la extracción serial de muestras de sangre: Pre, Post (dentro de los 2 min), y a los 30, 60 y 120 min después del ejercicio. En cada uno de éstos puntos se realizó la determinación de superóxido dismutasa (SOD, U/mL), capacidad antioxidante total (TAC, mM), carbonilos proteicos (PC, nmol/mg) y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs, $\mu\text{mol/L}$). No encontramos ninguna diferencia entre los grupos en presión sanguínea, BMI ni en la capacidad de ejercicio (medido a través del volumen de oxígeno consumido, $\text{VO}_{2\text{max}}$). Los afro-americanos tenían valores significativamente mayores de SOD ($p < 0,05$) (Pre: $5,45 \pm 0,4$ vs. $3,69 \pm 0,69$; 60 min: $8,99 \pm 0,7$ vs. $4,23 \pm 0,6$; 120 min: $9,69 \pm 1,6$ vs. $3,52 \pm 0,7$), TAC (Pre: $2,31 \pm 0,25$ vs. $1,16 \pm 0,3$; Post: $2,39 \pm 0,2$ vs. $1,34 \pm 0,2$; 30 min: $2,29 \pm 0,2$ vs. $1,09 \pm 0,2$) y PC (Pre: $1,09 \pm 0,1$ vs. $0,82 \pm 0,1$; Post: $1,14 \pm 0,1$ vs. $0,81 \pm 0,1$; 30 min: $1,13 \pm 0,1$ vs. $0,85 \pm 0,1$; 60 min: $1,06 \pm 0,1$ vs. $0,81 \pm 0,05$), pero no de TBARs. Entre los grupos, sólo SOD exhibió una respuesta diferente de evolución en el tiempo: los niveles de los sujetos afro-americanos subieron firmemente a lo largo de los 120 min, mientras que los niveles de los sujetos caucásicos alcanzaron el máximo a 30 min y a los 120 min ya había retornado a los niveles pre ejercicio. La raza ejerció un efecto sobre las respuestas al estrés oxidativo mayor que el efecto del ejercicio submáximo. Los afro-americanos tenían valores de TAC, SOD y PC significativamente más altos que los caucásicos.

Palabras Clave: afro-americanos, ejercicio submáximo, antioxidantes, óxido nítrico, superóxido dismutasa, capacidad antioxidante total

INTRODUCCION

Los afro-americanos presentan niveles desproporcionados de hipertensión (HT), mayor incidencia de enfermedad cardiovascular y renal, y elevado nivel de estrés oxidativo en comparación con otros grupos étnicos, en particular con los

caucásicos. Adicionalmente, estudios realizados en células endoteliales no estimuladas han demostrado que estas diferencias raciales también existen *in vitro*, ya que se ha reportado un mayor estrés oxidativo en células de sujetos afro-americanos que en células provenientes de sujetos caucásicos (17).

No se conocen bien los efectos del ejercicio agudo submáximo en el equilibrio oxidante/antioxidante a lo largo de un período post-ejercicio. Hay inconsistencias en los resultados de un estudio a otro, debido a las diferencias en el protocolo de ejercicios, nivel de entrenamiento y género. Tampoco se conoce bien si hay disparidad entre las razas en las respuestas de estrés oxidativo frente al ejercicio. Dado que el ejercicio a menudo se prescribe como tratamiento no farmacológico de enfermedades crónicas como HT y, dado que los afro-americanos tienden a tener niveles más altos de estrés oxidativo, es fundamental establecer la intensidad de ejercicio apropiada que no provocará una respuesta de estrés oxidativo exagerada.

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre la producción de radicales libres y la capacidad del sistema antioxidante para amortiguar el daño oxidativo. El ejercicio provoca un aumento en el consumo de oxígeno y, por consiguiente, la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), lo que finalmente produce un mayor estrés oxidativo, si la capacidad *buffer* del sistema antioxidante es insuficiente. Esta respuesta de estrés oxidativo frente al ejercicio tiene diferentes marcadores bioquímicos. Se sabe que, en respuesta al ejercicio, se expresan proteínas, sus niveles de expresión se vuelven máximos en diferentes momentos y el tiempo necesario para retornar a los niveles de expresión iniciales varían según el marcador bioquímico. Los protocolos de ejercicio pre vs. post clásicos recolectan las muestras post-ejercicio inmediatamente después de la serie de ejercicios, y solo existen algunos estudios en los cuales se hayan tomado más de 2 muestras de sangre para explorar la evolución en el tiempo de las respuestas al ejercicio agudo. En tal sentido, en 2007 Michailidis et al. (22) investigaron la evolución en el tiempo de las respuestas de diferentes marcadores de estrés oxidativo durante un período de 24-horas, después de una sesión de 45 minutos de ejercicio en cinta rodante a 70 a 75% de $VO_{2m\acute{a}x}$. Los autores estudiaron a 11 varones desentrenados y observaron diferentes tiempos de respuesta para los marcadores de estrés oxidativo. Sin embargo, según nuestros conocimientos, este tipo de estudios no fue realizado para investigar las potenciales diferencias raciales.

El propósito del presente trabajo fue estudiar las diferencias raciales entre adultos afro-americanos y caucásicos en la evolución en el tiempo de las respuestas oxidativas frente a una serie de ejercicio agudo. Dado que el ejercicio exhaustivo hasta la fatiga volitiva no es común para la mayoría de las sesiones de ejercicios en el público general, nosotros buscamos determinar si las respuestas frente a una prueba de ejercicio submáxima eran diferentes entre las razas.

MÉTODOS

Sujetos

En el estudio participaron estudiantes jóvenes de edad universitaria afro-americanos y caucásicos de 18 a 25 años de edad, que fueron reclutados a través de los anuncios y de boca en boca. Luego de que completaran un formulario extenso del historial de salud, durante la primera visita al laboratorio, se estableció que todos los sujetos aparentemente gozaban de buena salud y no presentaban factores de riesgo de enfermedad cardiovascular. Este estudio fue aprobado por el Comité de Revisión Institucional de Universidad de Temple, Filadelfia, PA. y fue realizado siguiendo los lineamientos de HIPPA, por lo que todos los estudiantes seleccionados dieron su consentimiento informado por escrito.

Diseño Experimental

Se solicitó a los sujetos que no consumieran vitaminas durante las 2 semanas previas al estudio, y que no consumieran cafeína, alcohol y no realizaran entrenamiento físico durante las 24 horas previas a la evaluación; además se les solicitó que realizaran ayuno de por lo menos 12 horas la noche previa al estudio. Las investigaciones han sugerido que las fluctuaciones hormonales durante el ciclo menstrual pueden influenciar las respuestas de estrés oxidativo frente al ejercicio (16). Por consiguiente, todas las mujeres fueron evaluadas en los días 1 al 5 de su ciclo menstrual, dado que los niveles hormonales tienden a ser menores al inicio de la fase folicular. En la mañana del día que comenzó el estudio, se determinaron la talla y el peso, y se tomó una muestra de sangre pre-ejercicio. Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos con EDTA y heparina sódica, luego fueron centrifugados a 2000 g durante 20 minutos a 4°C y posteriormente el plasma fue congelado a -80°C hasta el momento de las determinaciones. Luego los participantes realizaron un test de ejercicio submáximo de Bruce modificado en cinta rodante (TM). El test TM finalizaba cuando los sujetos alcanzaban el 75 a 80% de su frecuencia cardíaca de reserva y posteriormente se realizó un análisis de regresión con los datos recolectados por calorimetría indirecta para predecir los niveles de $VO_{2m\acute{a}x}$. Las muestras de sangre post-ejercicio fueron recolectadas en los siguientes momentos: Inmediatamente después de la finalización del ejercicio (dentro de los 2 minutos) y a los 30, 60 y 120 minutos de finalización. Todos los sujetos permanecieron en el laboratorio durante las 2 horas posteriores al período

de ejercicios para controlar la ingesta de agua y comida. Durante este tiempo, se les permitió sentarse y leer, o trabajar en la computadora. Se les permitió beber hasta 1 L de agua. Al finalizar el test, se les sirvió jugo y bocadillos para recuperar el nivel de glucosa. Los datos de los sujetos se tenían en cuenta, sólo si se recolectaba el 80% de las muestras de sangre.

Determinaciones (Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado)

Superoxido Dismutasa Plasmática (SOD)

Las muestras de plasma fueron diluidas 1:5 en el *buffer* de muestra (Tris-HCl 50 mM, pH 8,0). La actividad de SOD fue medida utilizando una solución de sal de tetrazolio detectora de radicales, diluida en el *buffer* de determinación (Tris-HCl, 50 mM, pH 8,0, que contenía 0,1 mM de ácido dietileno triaminopentaacético e Hipoxantina 0,1 mM), para detectar los radicales superóxido generados por la hipoxantina y la xantina oxidasa. Una unidad de actividad SOD se definió como la cantidad de enzima necesaria para obtener el 50% de dismutación del radical superóxido. La absorbancia se leyó a 450 nm utilizando un Lector de Microplacas *SpectraMax* (*Molecular Devices, Sunnyvale, CA*). Todos los reactivos fueron obtenidos de *Cayman Chemical (Ann Arbor, MI)*. El límite de detección era 0,025 U/ml. Los coeficientes de variación inter- e intra-ensayo fueron 5,9% y 12,4%, respectivamente.

Capacidad Antioxidante Total (TAC).

Las muestras de plasma fueron diluidas 1:20 en *buffer* de prueba (fosfato de potasio 5 mM, pH 7,4, que contenía 0,9% cloruro de sodio y 0,1% glucosa). La determinación de TAC se basa en la capacidad de los antioxidantes presentes en el plasma para inhibir la oxidación de ABTS® (2,2'-Azino-de - a ABTS®+ por metmioglobina). La capacidad de los antioxidantes en el plasma para prevenir la oxidación de ABTS® se compara con la capacidad de un análogo hidrosoluble de la vitamina E, llamado *Trolox*. La absorbancia fue leída a 750 nm en un lector de Microplacas *SpectraMax* (*Molecular Devices, Sunnyvale, CA*) y la actividad de TAC fue cuantificada como equivalentes milimolares de *Trolox*. Todos los reactivos provenían de *Cayman Chemical (Ann Arbor, MI)*. El límite de detección era 0,044 mM. Los coeficientes de variación inter- e intra-ensayo fueron 6,7% y 9,2% respectivamente.

Cabonilos Proteicos (PC)

Antes de la determinación de PC, se estableció mediante el método de detección de proteínas de Bradford que el valor medio de proteínas plasmáticas era 6 g/dL. La formación de PC se determinó mediante el kit comercial de determinación de Carbonilos Proteicos por ELISA, Oxiselect™ (*Cell Biolabs, Inc., San Diego, CA*). Las instrucciones del fabricante se siguieron tal como describimos previamente (9). La absorbancia se leyó a 450 nm con un Lector de Microplacas *SpectraMax* (*Molecular Devices, Sunnyvale, CA*). El límite de detección fue 0,375 nmol/mg. Los coeficientes de variación inter- e intra-ensayo fueron 5,5% y 7,8%, respectivamente.

Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico (TBARS).

La peroxidación de lípidos en el plasma se evaluó a través de TBARS. Brevemente, la prueba involucra la reacción del malondialdehído (MDA) contenido en la muestra, con el ácido tiobarbitúrico (TBA) en condiciones de baja temperatura y elevada acidez, para formar un complejo MDA-TBA que puede cuantificarse a través de colorimetría. En el día de la determinación, las muestras de plasma fueron mezcladas con solución de dodecil-sulfato de sodio y reactivo de TBA (530 mg de ácido tiobarbitúrico solubilizado en una solución mixta que contenía 50 ml de hidróxido de sodio y 50 ml de ácido acético). La absorbancia se leyó a 535 nm con un lector de microplacas *SpectraMax* (*Molecular Devices, Sunnyvale, CA*). Todos los reactivos provenían de *Cayman Chemical (Ann Arbor, MI)*. Los coeficientes de variación inter- e intra-ensayo fueron 12,9% y 15,1%, respectivamente.

Análisis Estadísticos

Los datos se presentan en forma de Media \pm SE y el nivel de significancia se fijó en $p < 0,05$. La distribución de las variables fue analizada con el test de normalidad de Shapiro-Wilk y la homogeneidad de la varianza se determinó usando el test de Levene. Todos los datos presentaban distribución normal. Para determinar si existían diferencias significativas entre los grupos étnicos se aplicaron test-t de muestras independientes. Para evaluar si había efectos significativos de la raza o el tiempo se realizaron ANOVA de mediciones repetidas bidireccionales, aplicando las correcciones de Huynh-Feldt o Greenhouse-Geisser en los casos en que fuera necesario. A continuación se realizaron *test-t.post hoc*. El área debajo de la curva (AUC) se calculó mediante integración polinómica y para analizar las diferencias entre los grupos étnicos se realizaron *test-t* independientes. Los análisis estadísticos fueron realizados con SPSS versión 17,0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTADOS

Para el análisis por los grupos étnicos, los participantes fueron divididos según la raza en grupo afro-americano y grupo caucásico. La Tabla 1 muestra las características de los sujetos de cada grupo. No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos en ninguna de las variables.

	Afro-Americanos (n=9)	Caucásicos (n=9)	Valor de P
Edad, años	21,3 ± 0,5	20,6 ± 0,7	0,40
BMI, kg/m ²	25,8 ± 1,1	25,2 ± 2,2	0,83
VO ₂ max, ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	44,9 ± 3,4	44,6 ± 2,6	0,96
Presión sanguínea sistólica, mmHg	122,6 ± 4,4	126,2 ± 3,9	0,55
Presión sanguínea diastólica, mmHg	79,0 ± 3,8	78,0 ± 3,2	0,85

Tabla 1. Características de los Sujetos por Grupo Étnico (n=18). Los datos se muestran en forma de Media±SE; n = tamaño de la muestra; BMI= Índice de masa corporal; VO_{2max}= Consumo de Oxígeno Máximo "estimado".

Respuestas de la SOD según la Raza

En la Figura 1 se observa la actividad de la SOD de ambas razas a lo largo del tiempo. Se observó un efecto significativo del tiempo y de la raza en la SOD. El análisis estadístico mostró un efecto del tiempo en las mediciones pre-ejercicio vs post-ejercicio (p = 0,03) y en los valores de los tiempos correspondientes a 30-minutos vs 60-minutos (p = 0,02) en el grupo de sujetos caucásicos. En el grupo afro-americano, el análisis mostró un efecto de tiempo en los valores post-ejercicio vs los valores obtenidos a los 30 minutos (p = 0,01). Los análisis de muestras pareadas, arrojaron diferencias significativas entre afro-americanos y caucásico en los valores obtenidos pre-ejercicio (p = 0,04), a los 60-minutos (p = 0,00) y a los 120 minutos (p = 0,01).

Respuestas de PC según la Raza.

En la Figura 2 se presentan los valores de PC en ambas razas a lo largo del tiempo. Se observó un efecto significativo solo de la raza en los niveles de PC. El grupo afro-americano tenía valores de PC más altos en todos los momentos y se observaron diferencias entre los afro-americanos y caucásicos que alcanzaron la significancia estadística en los valores determinados pre-ejercicio (p=0,01), post-ejercicio (p=0,00), a los 30 minutos (p=0,01) y a los 60 minutos (p=0,01).

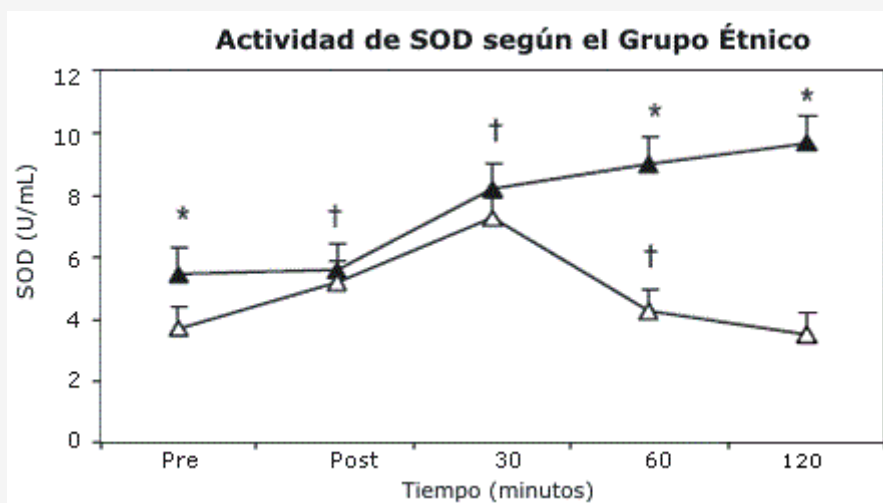


Figura 1. Comparación de los niveles de la enzima SOD entre los adultos afro-americanos (triángulos cerrados) y caucásicos

(triángulos abiertos). Los valores se presentan en forma de Media \pm SE. * Se observan diferencias significativas entre los grupos Étnicos. † Se observan diferencias significativas con el momento de muestreo previo. El nivel de significancia fue fijado en $p = 0,05$.

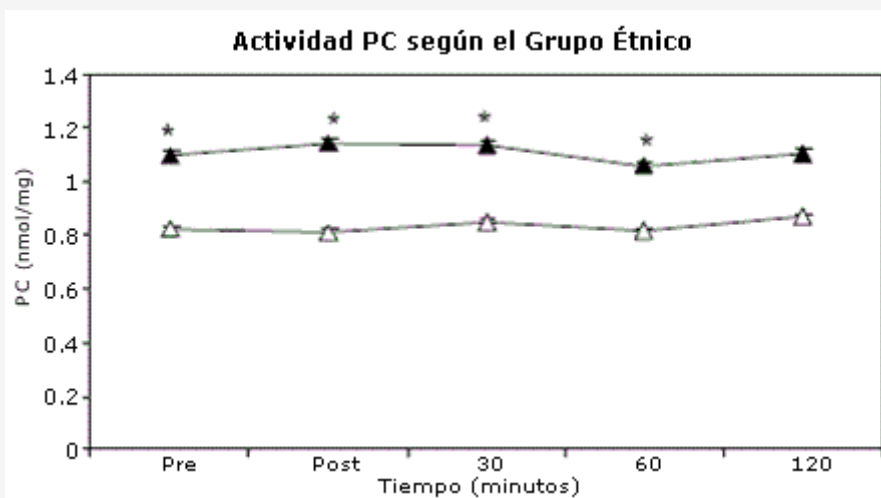


Figura 2. Comparación de los niveles de PC entre los adultos afro-americanos (triángulos cerrados) y caucásicos (triángulos abiertos). Los valores se presentan en forma de Media \pm SE. * Se observan diferencias significativas entre los grupos étnicos. El nivel de significancia se fijó en $p = 0,05$.

Respuestas de TAC según la Raza

La Figura 3 muestra los valores de TAC en ambas razas a lo largo del tiempo. Solo se observó un efecto significativo de la raza en las respuestas de TAC. Aunque el grupo afro-americano tenía valores de TAC más altos en todos los puntos de tiempo, el análisis demostró diferencias significativas entre los afro-americanos y caucásicos en los valores determinados pre-ejercicio ($p = 0,01$), post-ejercicio ($p = 0,00$) y a los 30 minutos ($p = 0,00$).

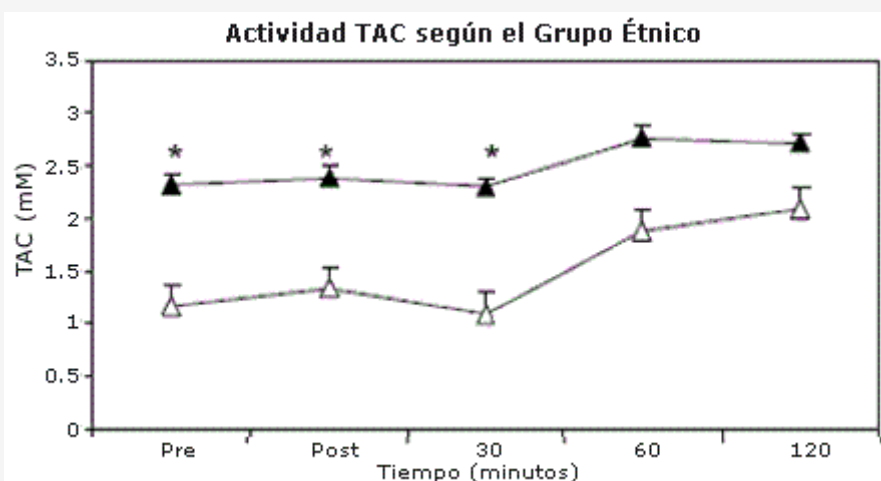


Figura 3. Comparación entre los niveles de TAC de los adultos afro-americanos (triángulos cerrados) y caucásicos (triángulos abiertos). Los valores se expresan en forma de Media \pm SE. * La diferencia significativa entre los grupos Étnicos. La significancia se fijó en $p = 0,05$.

Respuestas de TBARS según la Raza

La Figura 4 muestra los valores de TBARS a lo largo del tiempo en las dos razas analizadas. No se observaron efectos significativos de tiempo o de la raza.

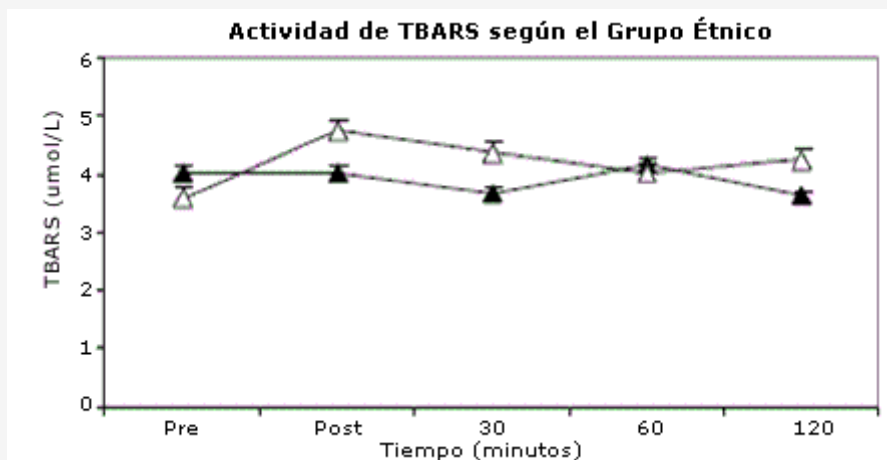


Figura 4. Comparación de los niveles de TBARS entre los adultos afro-americanos (triángulos cerrados) y caucásicos (triángulos abiertos). Los valores se expresan en forma de Media \pm SE.

Área Total bajo las Curvas de Respuesta de Estrés Oxidativo (AUC)

En la Tabla 2 se presentan las diferencias en AUC entre las razas. Se realizó la integración para analizar el AUC para cada variable de estrés oxidativo. El análisis de los test-t independientes reveló diferencias significativas entre las raza en SOD, TAC y PC, pero no en TBARS. Los datos indican que el grupo afro-americano tenía una carga de estrés antioxidante y oxidativo mayor durante todo el tiempo de muestreo.

	Afro-Americanos (N=9)	Caucásicos (N=9)	P-Valor
AUC SOD, U/ml por 120 min	986,0 \pm 86,3	517,9 \pm 51,8	0,00
AUC TAC, mM por 120 min	293,2 \pm 31,9	180,7 \pm 23,4	0,01
AUC PC, nmol/mg por 120 min	126,1 \pm 7,7	96,9 \pm 8,7	0,02
AUC TBARS, umol/L por 120 min	405,2 \pm 74,9	478,8 \pm 54,9	0,44

Tabla 2. Área total debajo de las curvas de respuesta al estrés oxidativo, por grupo étnico. Los datos se presentan en forma de Media \pm SE. n=Tamaño de la muestra; AUC= Área tota bajo de la curva de respuesta; SOD= Actividad de la superóxido dismutasa; TAC = Capacidad antioxidante total; PC= carbonilos proteicos; TBARS= sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico.

DISCUSION

El hallazgo principal del presente estudio es que existen diferencias raciales significativas en los marcadores de estrés oxidativo, pero la intensidad del ejercicio submáximo fue suficiente para desencadenar una respuesta en la actividad sólo de la enzima SOD frente a la serie de ejercicio. Las investigaciones han establecido que el ejercicio aeróbico crónico puede aumentar efectivamente los niveles de estrés oxidativo, pero los resultados sobre las respuestas de estrés oxidativo al ejercicio agudo, especialmente de nivel submáximo, siguen siendo inconsistentes. Los informes de los estudios anteriores varían en cuanto a las respuestas y a los marcadores de estrés oxidativo, y esta diferencia puede estar influenciada principalmente por la intensidad del ejercicio, por grandes diferencias en el nivel de entrenamiento, edad, género, raza, y modalidad de ejercicio. Se ha observado que el ejercicio agudo de alta intensidad aumenta el estrés oxidativo (21, 23), mientras que otros estudios informaron respuestas diferenciales dependiendo de la intensidad del ejercicio (6, 11). Por

ejemplo, Dayan et al. (13) utilizaron un test de Balke modificado para estudiar la peroxidación de lípidos en varones saludables y no se observó ningún cambio en la oxidación de lípidos. La intensidad submáxima de un protocolo de Balke es similar a la utilizada en nuestro estudio y nosotros tampoco encontramos ningún cambio en la peroxidación de lípidos. Considerado esta disparidad en la literatura, parecería que todavía se necesitan investigaciones adicionales para dilucidar las respuestas de estrés oxidativo frente al ejercicio agudo.

En adultos caucásicos jóvenes, nosotros observamos que una serie de ejercicio agudo submáximo provocó un aumento significativo en la actividad de SOD pre-ejercicio vs post-ejercicio, en comparación con el grupo afro-americano donde no se observó ningún cambio. Algunos estudios no observaron cambios en la actividad SOD en modelos con animales, después de ejercicio exhaustivo agudo (1, 18), mientras que otros estudios han demostrado que el género y el nivel de entrenamiento ejercen influencia sobre las respuestas de SOD (10, 19, 24). A excepción del presente estudio, no hay ningún estudio que haya evaluado las diferencias raciales en la SOD en respuesta al ejercicio aeróbico agudo. Como mencionamos antes, nosotros observamos una diferencia racial en la actividad de la SOD a lo largo de la duración del período de muestreo. Los adultos caucásicos presentaron un aumento significativo en la actividad de la SOD en respuesta a la serie de ejercicio agudo. Estos niveles continuaron subiendo hasta que alcanzaban el máximo a los 30 minutos y a los 60 minutos habían regresado a los niveles basales.

De manera contraria, los adultos afro-americanos presentaron una respuesta retardada en la actividad de la SOD frente al estímulo del ejercicio submáximo. Los niveles de actividad de la SOD en los afro-americanos no comenzaron a subir hasta el momento de medición post-ejercicio y presentaron una tendencia ascendente durante las siguientes 2 horas. Según nuestros conocimientos, sólo un estudio ha informado diferencias raciales en las respuestas de la SOD y esto fue en pacientes diabéticos. Zitouni et al. (30) informaron que los pacientes afro-americanos presentaron actividad de SOD significativamente más alta que los pacientes caucásicos, lo que coincide con lo que nosotros observamos en los adultos jóvenes saludables. Además, otro dato inédito de nuestro laboratorio en adultos saludables confirma una actividad de SOD más alta en afro-americanos que en caucásicos, antes y después de un test de Bruce de máxima intensidad en cinta rodante. La enzima SOD es la principal enzima antioxidante que cataliza la dismutación del anión superóxido en peróxido de hidrógeno, por lo que una actividad SOD más alta en los afro-americanos sugiere que existe un mayor nivel de producción de superóxido y por lo tanto un elevado estrés oxidativo.

El aumento en el estrés oxidativo interactúa con las proteínas, lípidos y ADN y provoca la degradación de las proteínas, peroxidación de lípidos y daño en el ADN. Sin embargo, el efecto de daño del ejercicio depende de la duración y grado de ejercicio así como del nivel de entrenamiento de los sujetos (25). Las modificaciones en las proteínas inducidas por ROS provocan alteraciones en la estructura de las proteínas o afectan el plegamiento de las proteínas y los productos más comunes de la oxidación de las proteínas son los carbonilos proteicos (PC) derivados de Pro, Arg, Lis y Thr. La carbonilación es una transformación irreversible y no enzimática de las proteínas y los subproductos derivados son marcadores de estrés oxidativo químicamente estables y fáciles de medir (12). Hay investigaciones recientes que han informado aumentos de PC asociados a muchos factores endógenos y exógenos no relacionados con el ejercicio. Se han encontrado niveles de PC elevados en pacientes que están extremadamente enfermos (28), con infección aguda (27), neurodegeneración (15) y en la patogénesis del envejecimiento (4,8). Recientemente, Yeh et al. (29) observaron niveles de PC que eran significativamente más altos en adultos afro-americanos que en caucásicos (29). De manera similar, en el presente estudio, los afro-americanos presentaron niveles de PC significativamente más altos que los caucásicos en todos los puntos de tiempo, lo que indica un estrés oxidativo elevado.

Nosotros también observamos que el ejercicio submáximo agudo no provocó cambios en los niveles de PC. De manera similar, Liu et al. (20) compararon las respuestas de estrés oxidativo frente al ejercicio agudo y crónico en ratas. Sus resultados demostraron que el ejercicio agudo no provocó cambios significativos en los niveles de PC; mientras que, el ejercicio crónico produjo una pequeña disminución. Algunos estudios (2, 20) también informaron que la magnitud del daño oxidativo está asociado con la intensidad de la serie de ejercicios agudos. Las altas-intensidades y altos-volumenes de ejercicio aeróbico provocan un aumento en el daño de proteínas y ADN tal como se determina por los niveles más altos de PC (5, 26). En síntesis, parecería que la intensidad de un test submáximo en cinta rodante no es suficiente para provocar un cambio en los niveles de PC, lo que fue confirmado en el presente estudio.

El test de ejercicio submáximo tampoco fue un estímulo de intensidad suficiente para producir una respuesta en TAC. Esto también fue observado por Ashmaig et al. (3) quienes no observaron ningún cambio en TAC en los pacientes con enfermedad isquémica del corazón que realizaron un test de Bruce estándar en cinta rodante. Por otro lado, Demerbag et al. (14) determinaron las respuestas de TAC frente a un protocolo de Bruce modificado en cinta rodante de intensidad submáxima e informaron una disminución en TAC. Los participantes de éste estudio eran pacientes con angina o con síntomas similares a la angina. La variación en las poblaciones de los estudios puede haber contribuido a las diferentes respuestas en TAC. Aunque nosotros no encontramos ninguna respuesta frente al ejercicio en TAC, si encontramos diferencias significativas entre las razas en los niveles TAC entre los valores medidos pre-ejercicio, post-ejercicio y a los 30 minutos. El grupo afro-americano tenía valores mayores en todos los puntos de tiempo medidos, lo que sugiere la presencia

de un elevado estrés oxidativo y, por consiguiente, de niveles crecientes de antioxidantes.

Es necesario mencionar que el presente estudio posee algunas limitaciones. Primero, el tamaño de la muestra es pequeño pero esto se debió a la exclusión de atletas universitarios, diabéticos, fumadores, mujeres que realizaban control de embarazo y todos los otros grupos étnicos. Esto se realizó intencionalmente para crear grupos tan homogéneos como fuera posible y asegurar la ausencia de variables de confusión que pudieran influir en las mediciones del estrés oxidativo. Considerado el pequeño tamaño de la muestra, realizamos el análisis de la potencia y observamos que para los marcadores bioquímicos que presentaron diferencias raciales significativas; SOD, TAC, y PC la potencia estadística fue de 65 a 75% con un nivel de alfa de 0,05. La potencia calculada para TBARS fue menor y esto podría haber contribuido con la falta de diferencias significativas entre los grupos. Sin embargo, los valores de TBARS en el grupo afro-americano y en el grupo caucásico fueron muy similares a lo largo de todos los puntos de tiempo medidos. Segundo, en el estudio no se controló la dieta, pero creímos que no era necesario porque las investigaciones recientes han demostrado que en los sujetos de edad y estado de salud similar a los que participaron en el presente estudio, las diferencias diarias en la ingestión de macronutrientes son muy pequeñas (2, 7). Finalmente, la mayoría de los estudios de ejercicios utilizaron intensidades de ejercicio más agresivas, y el uso de un test de ejercicio submáximo en este estudio, podría no reproducir las respuestas de estrés oxidativo frente a otros ejercicios máximos o exhaustivos. Uno de los principales objetivos de este estudio fue analizar si existen diferencias raciales en las respuestas al estrés oxidativo y nosotros encontramos diferencias raciales significativas entre adultos afro-americanos y caucásicos, en los marcadores de estrés oxidativo como la SOD, TAC y PC.

Conclusión

En conclusión, la raza ejerció un efecto más importante que el efecto que pudieran ejercer el tiempo o el ejercicio, sobre los niveles de estrés oxidativo. Los afro-americanos tenían niveles de TAC, SOD y PC significativamente mayores que los sujetos caucásicos, y la SOD fue el único marcador bioquímico que presentó respuestas diferentes frente al ejercicio submáximo. Estos datos confirman lo que se informó previamente acerca de que los afro-americanos tienen un nivel más alto de estrés oxidativo que los sujetos caucásicos. Los resultados también se suman a la literatura existente sobre ejercicio agudo aportando evidencia que afirma que una sola serie de ejercicio submáximo no desencadenará respuestas sustanciales de estrés oxidativo, ya que el único marcador que presentó una respuesta fue la SOD. Considerando que el ejercicio exhaustivo hasta la fatiga volitiva no es común en las sesiones de ejercicios en la población general, éstos resultados sugieren que la intensidad moderada de un ejercicio submáximo puede ser una prescripción de ejercicio adecuada como tratamiento no farmacológico para enfermedades crónicas como HT y enfermedades cardiovasculares porque no produce un estrés oxidativo excesivo.

Dirección para Envío de Correspondencia

Deborah L. Fearheller, PhD; Department of Kinesiology, Temple University, 1800 N. Broad Street, Philadelphia, PA 19122. USA. Tel#: 215-204-6216. Fax: 215-204-4414. Correo electrónico: dfearheller@gmail.com

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por los subsidios RO1 HL085497 NIH/NHLBI (PI, Michael Brown) y KO1 AG019640 NIH/NIA (PI, Michael Brown).

REFERENCIAS

1. Acikgoz O, Aksu I, Topcu A, Kayatekin BM (2006). Acute exhaustive exercise does not alter lipid peroxidation levels and antioxidant enzyme activities in rat hippocampus, prefrontal cortex and striatum. *Neurosci Lett*; 406: 148-151
2. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc*; 32: 1576-1581
3. Ashmaig ME, Starkey BJ, Ziada AM, Amro A, Sobki S, Ferns GA (2001). Changes in serum concentration of antioxidants following treadmill exercise testing in patients with suspected ischaemic heart disease. *Int J Exp Pathol*; 82: 243-248
4. Beal MF (2002). Oxidatively modified proteins in aging and disease. *Free Radic Biol Med*; 32: 797-803
5. Bloomer RJ, Davis PG, Consitt LA, Wideman L (2007). Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. *Int J Sports Med*; 28: 21-25
6. Bloomer RJ, Goldfarb AH, Wideman L, McKenzie MJ, Consitt LA (2005). Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J Strength Cond Res*; 19: 276-285
7. Buford TW, Cooke MB, Redd LL, Hudson GM, Shelmadine BD, Willoughby DS (2009). Protease supplementation improves muscle function after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*
8. Chakravarti B, Chakravarti DN (2007). Oxidative modification of proteins: Age-related changes. *Gerontology*; 53: 128-139

9. Christie LA, Opii WO, Head E, Araujo JA, de Rivera C, Milgram NW, Cotman CW (2009). Short-term supplementation with acetyl-l-carnitine and lipoic acid alters plasma protein carbonyl levels but does not improve cognition in aged beagles. *Exp Gerontol*; 44: 752-759
10. Covas MI, Elosua R, Fito M, Alcantara M, Coca L, Marrugat J (2002). Relationship between physical activity and oxidative stress biomarkers in women. *Med Sci Sports Exerc*; 34: 814-819
11. da Silva LA, Pinho CA, Rocha LG, Tuon T, Silveira PC, Pinho RA (2009). Effect of different models of physical exercise on oxidative stress markers in mouse liver. *Appl Physiol Nutr Metab*; 34: 60-65
12. Dalle-Donne I, Aldini G, Carini M, Colombo R, Rossi R, Milzani A (2006). Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. *J Cell Mol Med*; 10: 389-406
13. Dayan A, Rotstein A, Pinchuk I, Vodovicz A, Lencovski Z, Lichtenberg D, Inbar O (2005). Effect of a short-term graded exhaustive exercise on the susceptibility of serum lipids to oxidation. *Int J Sports Med*; 26: 732-738
14. Demirbag R, Yilmaz R, Guzel S, Celik H, Kocyigit A, Ozcan E (2006). Effects of treadmill exercise test on oxidative/antioxidative parameters and DNA damage. *Anadolu Kardiyol Derg*; 6: 135-140
15. Jenner P (2003). Oxidative stress in parkinsons disease. *Ann Neurol*; 53 Suppl 3: S26-36; discussion S36-28
16. Joo MH, Maehata E, Adachi T, Ishida A, Murai F, Mesaki N (2004). The relationship between exercise-induced oxidative stress and the menstrual cycle. *Eur J Appl Physiol*; 93: 82- 86
17. Kalinowski L, Dobrucki IT, Malinski T (2004). Race-specific differences in endothelial function. Predisposition of African americans to vascular diseases. *Circulation*; 109: 2511-2517
18. Kayatekin BM, Gonenc S, Acikgoz O, Uysal N, Dayi A (2002). Effects of sprint exercise on oxidative stress in skeletal muscle and liver. *Eur J Appl Physiol*; 87: 141-144
19. Kerksick C, Taylor Lt, Harvey A, Willoughby D (2008). Gender-related differences in muscle injury, oxidative stress, and apoptosis. *Med Sci Sports Exerc*; 40: 1772-1780
20. Liu J, Yeo HC, Overvik-Douki E, Hagen T, Doniger SJ, Chyu DW, Brooks GA, et al (2000). Chronically and acutely exercised rats: Biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *J Appl Physiol*; 89: 21-28
21. Mastaloudis A, Leonard SW, Traber MG (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med*; 31: 911-922
22. Michailidis Y, Jamurtas AZ, Nikolaidis MG, Fatouros IG, Koutedakis Y, Papassotiriou I, Kouretas D (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Med Sci Sports Exerc*; 39: 1107-1113
23. Nikolaidis MG, Kyparos A, Hadziioannou M, Panou N, Samaras L, Jamurtas AZ, Kouretas D (2007). Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Appl Physiol Nutr Metab*; 32: 197-205
24. Ortenblad N, Madsen K, Djurhuus MS (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after shortterm maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol*; 272: R1258- 1263
25. Poulsen HE, Loft S, Vistisen K (1996). Extreme exercise and oxidative DNA modification. *J Sports Sci*; 14: 343-346
26. Tsai K, Hsu TG, Hsu KM, Cheng H, Liu TY, Hsu CF, Kong CW (2001). Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. *Free Radic Biol Med*; 31: 1465-1472
27. Winterbourn CC, Bonham MJ, Buss H, Abu-Zidan FM, Windsor JA (2003). Elevated protein carbonyls as plasma markers of oxidative stress in acute pancreatitis. *Pancreatology*; 3: 375-382
28. Winterbourn CC, Buss IH, Chan TP, Plank LD, Clark MA, Windsor JA (2000). Protein carbonyl measurements show evidence of early oxidative stress in critically ill patients. *Crit Care Med*; 28: 143-149
29. Yeh CC, Graham Barr R, Powell CA, Mesia-Vela S, Wang Y, Hamade NK, Austin JH, et al (2008). No effect of cigarette smoking dose on oxidized plasma proteins. *Environ Res*; 106: 219- 225
30. Zitouni K, Nourooz-Zadeh J, Harry D, Kerry SM, Betteridge DJ, Cappuccio FP, Earle KA (2005). Race-specific differences in antioxidant enzyme activity in patients with type 2 diabetes: A potential association with the risk of developing nephropathy. *Diabetes Care*; 28: 1698-1703

Cita Original

Feairheller DL, Diaz KM, Sturgeon KM, Williamson ST, Brown MD. Racial Differences in the Time-Course Oxidative Stress Responses to Acute Exercise. *JEPonline*; 14 (1): 49-59.2011.