

**EFFECTO DE UN PROTOCOLO DE EJERCICIOS AERÓBICOS,  
INTERVÁLICOS Y DE RESISTENCIA MUSCULAR SOBRE LOS  
PARÁMETROS DE PROTEÍNAS, LIPOPROTEÍNAS OXIDADAS Y  
PERFIL LIPIDICO, EN SUJETOS CON SÍNDROME METABÓLICO,  
PERTENECIENTES AL PROGRAMA DE SALUD  
CARDIOVASCULAR DE VALPARAÍSO**

**SEMINARIO DE TÍTULO PARA OPTAR AL GRADO DE MÁGISTER EN  
CIENCIAS, MENCIÓN RADICALES LIBRES EN BIOMEDICINA**

**Autores: Ignacio Andrés Cayupi Aguayo**

**Profesora Guía: Marilyn Paz Araos Mg.**

**Carrera de Kinesiología**

**Facultad de Medicina**

**Universidad de Valparaíso**

Valparaíso – Chile

2016



*A mi familia y amigos, que dan sentido a todo*

*A la naturaleza y su enigmática e inconmensurable belleza*

*A la música, que con sus vibraciones da vida a lo que no debería*

*A los que conocí en el transcurso de este desafío, que con su paciencia, carisma y eterna disposición a una sonrisa, impulsaron mi deseo de culminar*

## ÍNDICE

1. Índice de tablas y figuras	vi
2. Abreviaturas	vii
3. Abstract	x
4. Resumen	xi
5. Introducción	1
6. Marco teórico	4
6.1 Definición y diagnóstico	6
6.2 Estrés oxidativo	8
6.2.1 Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno	10
6.2.2 Defensas antioxidantes	13
6.2.3 Fuentes generadoras de radicales libres	18
6.2.4 Síndrome metabólico y estrés oxidativo	21
6.3 Ejercicio físico	37
6.3.1 Ejercicio físico y estrés oxidativo	39
6.3.2 Ejercicio físico y síndrome metabólico	42
6.3.3 Ejercicio aeróbico, interválico y de res. muscular	46
7. Hipótesis	49
8. Objetivos	50
9. Materiales y método	52
9.1 Materiales	52

9.2 Método	53
9.2.1 Diseño del estudio	53
9.2.2 Población	53
9.2.3 Muestra	53
9.3 Metodología	55
9.4 Batería de pruebas	58
9.4.1 Preparación de la muestra	59
9.4.2 Det. de lipoproteínas de baja densidad oxidadas	59
9.4.3 Determinación de carbonilos proteicos plasmáticos	60
9.4.4 Determinacion de proteínas totales	62
9.4.5 Análisis estadístico	62
9.5 Intervención	63
10. Resultados	66
10.1 Determinación de marcadores de daño oxidativo	67
10.2 Determinación del perfil lipídico	69
10.3 Determinación de defensas antioxidantes	74
11. Discusión	76
12. Conclusión	83
13. Referencias	84
14. Anexos	104

## 1. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Figura 1. Concentración de lipoproteínas de baja densidad oxidadas en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	67
Figura 2. Concentración de proteínas carboniladas en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	68
Figura 3. Concentración de LDL en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	69
Figura 4. Concentración de HDL en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	70
Figura 5. Concentración de colesterol en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	71
Figura 6. Concentración de triglicéridos en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	72
Figura 7. Actividad de SOD (% unidad de enzima / mg de proteína) en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	73
Figura 8. Actividad de CAT (% unidad de enzima / mg de proteína) en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	74
Figura 9. TRAP en relación a Trolox (un antioxidante de referencia) en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1)	75

## 2. ABREVIATURAS

•Q <sup>-</sup> :	Anión semiquinona
•HO:	Radical hidroxilo
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
AGL:	Ácidos grasos libres
AMPK:	Proteína kinasa activada por adenosín monofosfato
AO:	Antioxidante
apo B-100:	Apolipoproteína B-100
ATP:	Adenosín trifosfato
CAT:	Catalasa
CESFAM:	Centro de salud familiar
DLP:	Dislipidemia
DM-II:	Diabetes mellitus tipo II
eNOS:	Óxido nítrico sintetasa endotelial
ENS:	Encuesta nacional de salud
EO:	Estrés oxidativo
ERN:	Especies reactivas de nitrógeno
ERO:	Especies reactivas de oxígeno
ET-1	Endotelina-1
FADH <sub>2</sub> :	Dinucleótido de flavina y adenina
FC:	Frecuencia cardíaca

GC:	Guanilil-ciclasa
GLUT-4:	Transportador de glucosa tipo 4
GMPc:	Guanosín monofosfato cíclico
GPx:	Glutación peroxidasa
GRx:	Glutarredoxina
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> :	Peróxido de hidrógeno
HDL:	Lipoproteína de alta densidad
HTA:	Hipertensión arterial
IL:	Interleucina
iNOS:	Óxido nítrico sintetasa inducible
IRS-1:	Sustrato del receptor de insulina tipo 1
LDL:	Lipoproteína de baja densidad
LDL <sub>ox</sub> :	Lipoproteína de baja densidad oxidada
MAPK:	Proteína kinasa activada por mitógenos
MCP-1:	Proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1
MINSAL:	Ministerio de salud
NADH:	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADPH:	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NF-κB:	Factor nuclear kappa B
nNOS:	Óxido nítrico sintetasa neuronal
NO:	Óxido nítrico
NOS:	Óxido nítrico sintetasa

O <sub>2</sub> <sup>-</sup> :	Superóxido
OMS:	Organización mundial de la salud
ONOO <sup>-</sup> :	Peroxinitrito
OV:	Obesidad visceral
PCR:	Proteína C reactiva
PI3K:	Fosfatidilinositol-3-kinasa
PRx:	Peroxirredoxina
QH <sub>2</sub> :	Coenzima Q reducida
Redox:	Óxido-reducción
RI:	Resistencia a la insulina
RL:	Radical libre o radicales libres
RQ:	Remanente de quilomicrones
SM:	Síndrome metabólico
ECNT:	Enfermedades crónicas no transmisibles
SOD:	Superóxido dismutasa
TEAC:	Capacidad antioxidante equivalente al trolox
TG:	Triglicéridos
TNF $\alpha$ :	Factor de necrosis tumoral alfa
TRAP:	Capacidad antioxidante total
TRx:	Tiorredoxina
VLDL:	Lipoproteínas de muy baja densidad

### 3. ABSTRACT

**Objective:** Evaluate the effect of aerobic, intervallic and muscular endurance exercise protocol, about the parameters of oxidative stress, in patients attached to Cardiovascular Health Program from Family Health Center Placeres.

**Method:** *The present investigation, correspond to qauasi-experimental study, non-randomized, with pre and post-measurements. The sample consisted in 9 subjects of both gender, age between 51 to 77 years, separated in 2 groups (G0 non-intervention and G1 intervention), users of Cardiovascular Health Program in Placeres Familiar Health Center, Valparaíso, Chili. Each group was measured in lipid profile, oxidative stress markers and antioxidant enzymes before the intervention, and after 4 months of intervention.*

**Results:** *G0 group didn't show significative differences. G1 group show significative differences ( $p < 0,05$ ), represented in an increase of oxidative damage, expressed in LDLox and plasmatic protein carbonyls markers. The same group experienced an increase in SOD and TRAP expression, with significative differences ( $p < 0,05$ ).*

**Conclusions:** *The application of an aerobic, intervallic and muscular endurance exercise protocol for 3 months, generates an increase in plasma LDLox and carbonyl concentration, besides a SOD and TRAP upregulation increment.*

**Keywords:** *metabolic síndrome, physical exercise, oxidative stress, antioxidant defense.*

#### 4. RESUMEN

**Objetivo:** *Evaluar el efecto de un protocolo de ejercicios aeróbicos, interválicos y resistencia muscular, sobre los parámetros de estrés oxidativo, en pacientes adscritos al programa cardiovascular del centro de salud familiar Placeres.*

**Método:** *El presente estudio corresponde a un diseño cuasi-experimental, con una muestra no probabilística con mediciones pre y post intervención. La muestra la conformaron 9 sujetos de ambos sexos, con edades entre 51 y 77 años, divididos en 2 grupos (G0 no intervenido y G1 intervenido) pertenecientes al Programa de Salud Cardiovascular del Centro de Salud Familiar Placeres de Valparaíso, Chile. En cada grupo se midió el perfil Lipídico, marcadores de daño oxidativo y enzimas antioxidantes al momento de iniciar el protocolo de ejercicios físico y a los 4 meses.*

**Resultados:** *El grupo G0 no mostró diferencias significativas. El grupo G1 presentó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), representado en un incremento en el daño oxidativo, expresado en marcadores de LDLox y carbonilos proteicos plasmáticos. Este mismo grupo experimentó un aumento en la expresión de SOD y TRAP, con diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).*

**Conclusiones:** *La aplicación de un protocolo de ejercicio físico aeróbico interválico y de resistencia muscular por un periodo de 3 meses, generó un incremento de las concentraciones de LDLox y carbonilos en plasma, además de un aumento en la expresión de SOD y TRAP.*

**Palabras claves:** *síndrome metabólico, ejercicio físico, estrés oxidativo, defensa antioxidante.*

## 5. INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SM) corresponde a una entidad fisiopatológica que engloba un grupo de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT): hipertensión arterial (HTA), resistencia a la insulina (RI), dislipidemia (DLP) y obesidad visceral (OV), las cuales tienen efectos deletéreos para la salud (Hansel *et al.*, 2004). Esto representa un grave problema de salud pública debido a que favorece la generación de patologías cardiovasculares graves, tales como infarto agudo al miocardio, accidente cerebro vascular, entre otros, las cuales, en muchos casos, pasan desapercibidas durante su desarrollo (Otani, 2011).

Los fenómenos clínicos relacionados al SM, representan una pérdida de la homeostasis corporal, provocando además de un estado inflamatorio generalizado, la pérdida del equilibrio de óxido-reducción (Redox) (Roberts, 2009; Dinh *et al.*, 2014). El equilibrio Redox se mantiene gracias a una estrecha y muy regulada interacción entre los factores pro oxidantes y las defensas antioxidantes (AO) (Dinh *et al.*, 2014). La alteración de este balance genera el llamado estrés oxidativo (EO). Este fenómeno se caracteriza por la generación de radicales libres (RL), específicamente de especies reactivas de oxígeno (ERO), las cuales representan un factor de riesgo cardiovascular (Ando & Fujita, 2009), ya que se asocia a la presencia de disfunción endotelial, elasticidad

vascular reducida y rigidez vascular, además de ser un factor de deterioro de la perfusión tisular, hemostasia y trombosis (Junzhen *et al*, 2014).

Dentro de los factores AO necesarios para mantener el equilibrio, se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), Glutathion peroxidasa (GPx), Catalasa (CAT) y Scavengers o atrapadores de ERO. Estos cumplen con la función de mantener el equilibrio frente a ERO tales como anión superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y radical hidroxilo ( $\bullet HO$ ), elementos que favorecen un estado inflamatorio, produciendo remodelamiento vascular, crecimiento exacerbado de células musculares y tejido conectivo, incluso apoptosis (Higashi *et al.*, 2009).

Los principales focos de daño frente a un estado de EO, son las macromoléculas de nuestro organismo: ácido desoxirribonucleico (ADN), lípidos y proteínas (Dinh *et al.*, 2014). El daño de estas genera alteraciones en la función celular, y desde el punto de vista cardiovascular, tiene por resultado la posibilidad de generación de patologías como HTA, diabetes mellitus II (DM-II), insuficiencia cardíaca y aterosclerosis (Steyers & Miller, 2014).

En la presente investigación, se analizarán mediadores de lipoperoxidación y de oxidación a proteínas. Estos fenómenos tienen por consecuencia la formación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas ( $LDL_{ox}$ ) y carbonilos proteicos plasmáticos, respectivamente (Parthasarathy *et al.*, 2010; Wadley *et al.*, 2016).

Se ha observado que el ejercicio actúa como un factor pro-oxidativo, sin embargo, también actúa como protector de enfermedades cardiovasculares, además de favorecer la expresión adaptativa de enzimas AO y homeostasis de múltiples factores, tales como óxido nítrico (NO), perfil lipoprotéico, sensibilidad a la insulina, etc. (Henriksen E., 2007; Casillas J.M *et al.*, 2007; Higashi *et al.*, 2009).

El presente estudio corresponde a una segunda fase investigativa, enmarcada en el proyecto denominado “Efecto de un protocolo de ejercicios aeróbicos y resistencia muscular, sobre el estado de EO en pacientes con riesgo de patología cardíaca metabólica”, el cual utilizó como población de estudio a un grupo de personas pertenecientes al programa cardiovascular del Centro de Salud Familiar (CESFAM) Placeres, cerro Placeres, Valparaíso. En esta segunda etapa, se pretende evaluar los parámetros de LDLox y carbonilos, con el fin de establecer una relación entre los mecanismos adaptivos generados por la intervención de ejercicio físico en una población con síndrome metabólico y mecanismos compensatorios al deterioro oxidativo. Y así establecer pautas de prevención y diagnóstico clínico.

## 6. MARCO TEÓRICO

El SM se caracteriza por ser un conglomerado de condiciones fisiopatológicas que actúan como factores de riesgo para producir ECNT. Presentan una lenta y progresiva evolución, son de muy larga duración y no son transmisibles entre personas (E. Hopps *et al.*, 2009; López *et al.* 2007).

A raíz de lo expuesto, según la organización mundial de la salud (OMS) el SM representa un gran problema de salud pública, siendo la mayor entidad fisiopatológica generadora de discapacidad y muerte, tanto en los países desarrollados, como en los países en vías de desarrollo (Kandula *et al.*, 2005). La causa de tal impacto radica en que en su conjunto representa un importante factor de riesgo para la aparición de ECNT como: HTA, DLP, DM-II, obesidad (Roberts & Sindhu, 2009), enfermedades respiratorias crónicas, cáncer, depresión, etc. (Mathers *et al.*, 2006, H.Li *et al.*, 2016). La incidencia de los factores de riesgo conglomerados en el SM, están íntimamente relacionados a los estilos de vida y estratos socioeconómicos, siendo este factor social un exacerbante al problema de base. Es así como el tabaquismo, una dieta poco saludable, el sedentarismo y otros malos hábitos de vida, agravan la condición homeostática corporal, generando patologías (MINSAL, 2010).

A nivel local, Chile ha experimentado un incremento progresivo y marcado en la aparición de ECNT, manifestándose en un aumento de la morbimortalidad de patologías relativas al SM. Según la Encuesta Nacional de Salud (ENS) realizada en Chile en el año 2009-2010 (MINSAL), existe una notoria prevalencia de hábitos de vida poco saludables. En lo concreto se evidencia en índices elevados de prevalencia de sedentarismo (88,6%), consumo de tabaco (40,6%), exceso de peso (64,5%), entre otros, que finalmente se traduce en tasas de SM de 8,8% en los menores de 24 años (10,5% en hombres y 7,4% en mujeres), de un 36,6% en la población adulta entre 25 y 64 (46% en hombres y 30,1% en mujeres) y un significativo 51,6% en mayores de 65 años (53% en hombres y 50,7% en mujeres).

## 6.1 DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO

El SM actualmente se define como una condición patológica asociada a RI e hiperinsulinemia que presenta un alto riesgo de desarrollar DM-II y enfermedad cardiovascular aterosclerótica (Maiz, 2005). Su diagnóstico ha ido evolucionando con los años (López *et al*, 2007) y existen distintos consensos a nivel mundial. Para el desarrollo de la presente investigación, se utilizó los criterios aplicados en la ENS 2009-2010 (MINSAL), basados en los acuerdos consensuados en 2004 en National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP ATP-III) por la American Heart Association y por el National Heart, Lung and Blood Institute. Según esta propuesta existen 5 criterios categóricos, de los cuales un sujeto con SM debe experimentar a lo menos 3:

1. Incremento de la circunferencia de cintura:  $\geq 88$  [cm] en los varones y  $\geq 83$  [cm] en las mujeres (Criterio International Diabetes Federation – IDF C3, utilizado por ENS desde 2003 para población chilena).
2. Elevación de los triglicéridos (TG):  $\geq 150$  [mg/dL] (1,7 [mmol/l]), o tratamiento farmacológico por elevación de los TG.
3. Disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL):  $< 40$  [mg/dL] (0,9 [mmol/l]) en los varones,  $< 50$  [mg/dL] (1,1 [mmol/l]) en las mujeres,

o tratamiento farmacológico para alteración de las concentraciones de las HDL.

4. Elevación de la presión arterial:  $\geq 130$  [mmHg] la sistólica y  $\geq [85$  mmHg] la diastólica, o bien tratamiento medicamentoso de la HTA.
5. Elevación de la glicemia en ayunas:  $\geq 100$  [mg/dL] o tratamiento farmacológico de la hiperglucemia.

Como se mencionó anteriormente, la génesis de estas condiciones patológicas deriva de factores fenotípicos y de conductas poco saludables, que se agrupan en los denominados constituyentes patológicos del SM.

## 6.2 ESTRÉS OXIDATIVO

Existe una gran cantidad de evidencia de la relación del EO con el SM (Furukawa *et al.*, 2004; Grattagliano *et al.*, 2008; Ando *et al.*, 2009; Skalicky *et al.*, 2009; Roberts *et al.*, 2009; Hoops *et al.*, 2010; Otani *et al.*, 2011; Hutcheson *et al.*, 2012; Matsuda *et al.*, 2013). Como se vio en el capítulo anterior, los fenómenos clínicos relacionados al SM, representan una pérdida del equilibrio homeostático, caracterizado por estados inflamatorios sistémicos. Sin embargo, se ha de considerar de manera importante al EO, debido a que los acontecimientos fisiopatológicos relacionados al SM, generan una alteración del equilibrio, señalización y control Redox (Powers *et al.*, 2008; Roberts, 2009; Dinh *et al.*, 2014).

El equilibrio Redox se mantiene gracias a una estrecha y muy regulada interacción entre los factores pro oxidantes y las defensas AO (Dinh *et al.*, 2014) y la alteración de este balance genera el llamado EO. Este fenómeno se caracteriza por la generación de ERO y especies reactivas de nitrógeno (ERN), las cuales representan un factor de riesgo cardiovascular (Ando & Fujita, 2009), ya que se asocia a la presencia de disfunción endotelial, elasticidad vascular reducida y rigidez vascular, además de ser un factor de deterioro de la perfusión tisular, hemostasia y trombosis (Junzhen *et al.*, 2014).

Las ERO, consisten en RL y moléculas reactivas derivadas del oxígeno molecular y su producción es común para todas las especies que utilizan el oxígeno como sustrato metabólico. Estas moléculas son producidas en diversos procesos celulares, donde destaca la cadena transportadora de electrones a nivel mitocondrial durante la respiración celular, la actividad Redox enzimática, la oxidación catalizada por metales, la contracción muscular y los procesos fagocíticos del sistema inmune, todos los cuales, en determinados estados, pueden volverse procesos deletéreos para el organismo si existe un desequilibrio (Held, 2010). Sin embargo, estudios recientes han demostrado que las ERO también participan en mecanismo de señalización celular, tales como expresión génica y apoptosis (Hancock *et al.*, 2001).

Un RL consiste en un átomo o molécula que contiene uno o más electrones desapareados y que además es capaz de existir independientemente, por lo tanto, son altamente reactivos, ya que tienden a generar enlaces con las macromoléculas concomitantes. Es en este proceso donde pueden generar daño a lípidos, proteínas o ADN, oxidándolos (Powers *et al.*, 2008; Sachdev & Davies, 2008).

Los RL primarios generados en la célula son el  $O_2^-$  y el NO. El  $O_2^-$  es generado tanto por una reducción incompleta de oxígeno en la cadena transportadora de electrones, o como producto de sistemas enzimáticos específicos, por otro lado,

el NO es producido por enzimas específicas óxido nítrico sintetasa (NOS). Estas moléculas pueden llevar a la generación de RL secundarios que pueden dañar tanto lipoproteínas, como proteínas (Held, 2010; Dalle-Donne *et al.*, 2003).

Para evitar el daño a macromoléculas, el organismo ha generado estrategias evolutivas para frenar el daño oxidativo, estabilizando las reacciones químicas formando productos más estables, las denominadas defensas AO. La SOD, una barrera enzimática AO, favorece la conversión de  $O_2^-$  en  $H_2O_2$ , molécula que posteriormente, en los peroxisomas celulares, se produzca una reacción mediada por CAT, para formar  $H_2O$  y  $O_2$ . Por otro lado, el NO rápidamente reacciona para formar peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) y otras ERN (Powers *et al.*, 2008).

### 6.2.1 Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno

- Superóxido: Esta molécula es formada como intermediario en reacciones químicas, posee carga negativa y es relativamente impermeable a la membrana celular. Si se compara a otras ERO, como el  $\bullet HO$ , posee una vida media relativamente mayor, lo que incrementa la posibilidad de difundir por la membrana celular. Es considerado relativamente poco reactivo comparado a otras ERO, sin embargo, puede reaccionar con NO para formar  $ONOO^-$ , o ser una molécula activa Redox, reduciendo

moléculas como el Citocromo C de la cadena respiratoria de electrones, u oxidando sales como el ascorbato de sodio (Darr *et al.*, 1994). La dismutación espontánea y enzimática de  $O_2^-$ , es la mayor responsable de la formación de  $H_2O_2$ .

- Peróxido de hidrógeno: Este compuesto reactivo puede potencialmente generar RL, incluida una molécula altamente reactiva, el  $\bullet HO$ , sin embargo, es más estable que el  $O_2^-$ , por lo que posee una vida media relativamente larga y puede difundir la membrana con mayor facilidad. Está molécula, en condiciones de equilibrio Redox, reacciona con la enzima CAT para formar  $O_2$  y  $H_2O$ , pero se le considera citotóxica, ya que en presencia de metales como el hierro ( $Fe^{2+}$ ) o cobre ( $Cu^{2+}$ ), pueden generar  $\bullet HO$  por reacción de Fenton y Haber-Weiss (Halliwell, 1995).
- Radical hidroxilo: Es un RL altamente reactivo, posee una vida media muy breve, y es incapaz de atravesar la membrana plasmática, por lo cual su blanco de daño debe estar concomitante a este y potencialmente puede dañar macromoléculas como el ADN, generando compuestos como 8-oxo-2' deoxyguanosine. Es considerada la ERO más dañina de los compuestos biológicos (Cooke *et al.*, 2003).

- Oxígeno singlete: Este compuesto presenta una vida media corta y es altamente reactivo por su gran capacidad oxidativa. No obstante, es capaz de difundir la membrana plasmática. Es formado gracias a la dismutación del  $O_2^-$  en  $H_2O$  (Powers *et al.*, 2008).
- Óxido nítrico: Esta molécula es sintetizada a partir de L-Arginina. La enzima encargada de la conversión de L-Arginina en NO se denomina NOS, la cual es nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) dependiente y posee como subproducto L-Citrulina. Existen tres tipos de NOS: NOS endotelial (eNOS), NOS neuronal (nNOS) y NOS inducible (iNOS). La eNOS produce el NO necesario para la vasodilatación de la musculatura lisa vascular, mediante la interacción con el grupo ferroso de GMPc (Halliwell, 1995), la nNOS produce NO con el propósito de ser utilizado como molécula señalizadora, y en el caso de la iNOS, produce NO con el objeto de ser utilizado en procesos del sistema inmunológico (Stuerh, 1998).
- Peroxinitrito: El NO reacciona con  $O_2^-$  para formar  $ONOO^-$ . Es una reacción altamente rápida, más que la dismutación de  $O_2^-$  para formar  $H_2O$ , por lo que si estos compuestos se encuentran en un mismo compartimento, es muy probable que se forme  $ONOO^-$ . Esa molécula es un fuerte agente oxidante que puede generar daño al ADN y nitrar

proteínas, desnaturalizándolas. Por lo anterior, se considera una molécula deletérea, ya que además disminuye la biodisponibilidad de NO (Powers *et al*, 2008).

### 6.2.2 Defensas antioxidantes

El organismo posee un organizado y bien estructurado sistema AO para para evitar un estado de desequilibrio Redox. Por definición, un AO es *“cualquier sustancia que, cuando está presente en concentraciones bajas en comparación con las de un sustrato oxidable, retrasa significativamente o previene la oxidación de dicho sustrato”* (Halliwell, 1995). Un sustrato oxidable es, básicamente, cualquier elemento presente en una célula: ADN, lípidos, proteínas, carbohidratos, etc.

Los AO se encuentran tanto en el espacio intracelular y extracelular, y se dividen en AO enzimáticos, no enzimáticos y exógenos (Powers *et al.*, 2008; Sachdev & Davies, 2008).

- Enzimas antioxidantes: Encontramos una serie de proteínas que tiene por función frenar la cadena oxidativa. Encontramos principalmente a SOD, GPx y CAT.

- Superóxido dismutasa: Su principal función es la de producir  $H_2O_2$  y  $O_2$  a partir de  $O_2^-$ . Existen tres isoformas: SOD1 (CuZnSOD), SOD2 (MnSOD) y SOD3 (EC-SOD). La primera utiliza cobre-zinc como cofactor y se encuentra en el espacio intermembrana mitocondrial. La segunda utiliza manganeso como cofactor, y se encuentra localizada principalmente en la matriz mitocondrial. La tercera utiliza cobre-zinc como cofactor, y se localiza en el espacio extracelular. Se ha visto que la actividad de la SOD es mayor en células con una alta actividad aeróbica, como es el caso de las fibras musculares tipo I y IIa del músculo esquelético (Kriswell, 1993; Zelko *et al.*, 2002).
- Glutación peroxidasa: Esta enzima presenta 5 isoformas. Es una enzima selenio (Se) dependiente que cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) o lipoperóxido (L-OOH), y mientras más actividad aeróbica presenta la célula, mayor es su concentración. La GPx utiliza al glutatión reducido (GSH) como donador de electrón, formando glutatión oxidado (GSSG). En vista de lo anterior, la célula presenta un sistema para regenerar el GSSG que se encuentra oxidado, utilizando otra enzima denominada glutatión reductasa, NADPH dependiente (Singhal *et al.*, 1987).

- Catalasa: Esta enzima tiene por función catalizar la conversión de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$ . Se encuentra ampliamente distribuida al interior de la célula (Kirkman *et al.*, 2007). CAT utiliza como cofactor al hierro, el cual debe estar adherido a su sitio activo enzimático (Chelikani *et al.*, 2003). Al igual que la GPx y SOD, la concentración de CAT es directamente proporcional al índice metabólico aeróbico celular, por ende, células con baja capacidad oxidativa, va a poseer un menor índice de esta enzima (Powers *et al.*, 2008).
- Enzimas antioxidantes-reparadoras: Además de las enzimas antes mencionadas, en el organismo existe una gran cantidad de otras enzimas AO que pueden contribuir directa o indirectamente al mantenimiento del estado Redox. De estas, las más estudiadas son la tiorredoxina (TRx), glutarredoxina (GRx) y peroxirredoxina (PRx). La TRx y GRx están involucradas en la protección y reparación de proteínas celulares en estados de desbalance Redox, ambas también pueden ser donadoras de electrones para la reacción mediada por GPx, donde se cataliza la conversión de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a ROH y  $\text{H}_2\text{O}$ . La PRx se ha visto involucrada en procesos de reducción de hidroperóxidos y peroxinitritos, además de regular

procesos de comunicación celular mediados por  $H_2O_2$  (Berndth, 2007).

- Antioxidantes no enzimáticos: Dentro de los AO endógenos encontramos vitaminas, cofactores enzimáticos, péptidos, polifenoles, entre otros (Kapoor *et al.*, 2015).
  - Vitaminas: Encontramos a la vitamina A, producto de la descomposición química del  $\beta$ -caroteno y es producido en el hígado. Su función reside en detener la propagación de radicales peroxilos, por ende, inhibir la lipoperoxidación (Kapoor *et al.*, 2015). La vitamina C es hidrofílica, por lo tanto, ejerce su función en ambientes acuosos, esta actúa como un AO scavenger, depurando  $O_2^-$ ,  $\bullet HO$  y radicales hidroperóxidos lipídicos, pero también tiene una importante función en el ciclaje Redox de la vitamina E (Carr *et al.*, 1999). La vitamina E es uno de los AO más abundantes en la naturaleza y engloba a 8 estructuras isómeras de tocoferol y tocotrienol, siendo el más estudiado y con mejor capacidad AO, el  $\alpha$ -tocoferol. Por sus características hidrofóbicas, ejerce su acción en regiones lipídicas, deteniendo la cadena de reacciones oxidativas en las membranas celulares (Powers, 2008).

- Coenzima Q10: Se ha estudiado su potencial AO, previniendo la lipoperoxidación, además posee una importante acción regenerativa de la vitamina E (Turunen *et al.*, 2004).
- Glutación: Es un tripéptido endógeno que cuando se encuentra reducido (GSH) actúa como donador de electrones, reduciendo proteínas oxidadas u otros antioxidantes como ascorbato y GPx (Steenvoorden *et al.*, 1997).
- Antioxidantes exógenos: Encontramos antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos que son adquiridos a través de la dieta. Al igual que los antioxidantes endógenos, su función radica en la depuración de RL como  $O_2^-$  y radicales peroxilos, inhibiendo la oxidación de macromoléculas (El-Agamey *et al.*, 2004).

En adición a la categorización previamente revisada, los antioxidantes pueden ser clasificados de acuerdo a su función supresora antioxidante. Encontramos tres tipos (Kapoor *et al.*, 2015):

- AO primarios: Son aquellos involucrados en la prevención de la formación de un agente oxidante. Encontramos por ejemplo a CAT y GPx.

- AO secundarios: Se encuentran todos aquellos antioxidantes secuestradores (quelantes) de ERO. Actúan inhibiendo la iniciación y propagación de una cadena oxidativa. Encontramos por ejemplo glutatión y tocoferol.
- AO terciarios: Son aquellos AO que actúan reparando moléculas oxidadas, como lípidos, ADN, proteínas, enzimas o incluso otros antioxidantes.

### 6.2.3 Fuentes generadoras de radicales libres

Existen múltiples fuentes generadoras de RL que pueden llevar a un desbalance oxidativo en el organismo, algunas de ellas son de fuentes endógenas y otras exógenas.

- Mitocondria: Este organelo es una importante fuente de RL endógenos. El anión  $O_2^-$ , es producido en dos componentes de la cadena transportadora de electrones mitocondrial, estos son el complejo I (NADH deshidrogenasa) y el complejo III (ubiquinona citocromo C reductasa). Esto se produce dado que el traspaso de electrones del complejo I o II a una coenzima Q o ubiquinona Q, resulta en la formación de una coenzima Q reducida ( $QH_2$ ). Esta  $QH_2$ , regenera a la coenzima Q

mediado por un intermediario inestable denominado anión semiquinona ( $\bullet Q^-$ ). Este  $\bullet Q^-$ , al ser altamente reactivo, inmediatamente reacciona donando su electrón a un oxígeno molecular, formando en consecuencia  $O_2^-$ , reacción que, al no ser enzimática, es mayor mientras así lo sea la tasa metabólica, como ocurre durante el ejercicio (Phaniendra *et al.*, 2014). Tradicionalmente se considera que entre 2-5% del  $O_2$  consumido por la mitocondria in vivo, deriva en la producción de  $O_2^-$  (Powers *et al.*, 2008), sin embargo, otros autores han observado que la tasa de producción de  $O_2^-$  alcanza cerca de un 0,15% del  $O_2$  consumido (Brand, 2010).

- Peroxisomas: En este organelo, la vía respiratoria involucra el paso de electrones al  $O_2^-$  desde varios metabolitos, para la formación de  $H_2O_2$ , con una consecuente liberación de energía en forma de calor. Además de  $H_2O_2$ , se forman NO y  $\bullet HO$ . La principal fuente de  $H_2O_2$  en el peroxisoma, es la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos.
- Retículo endoplasmático: Enzimas como el citocromo p450, b5 y diamino oxidasa presentes en el retículo y que participan en la síntesis de proteínas o lípidos, contribuyen a la formación de ERO, como ocurre con la Erop1p, una enzima tiol oxidasa, que cataliza la transferencia de

electrones desde grupos ditioles a oxígenos moleculares, formando  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Phaniendra *et al.*, 2014).

- Células fagocíticas: La producción de ERO por las células del sistema inmune que se encargan de la fagocitosis de patógenos u otras moléculas exógenas, se denomina comúnmente como estallido respiratorio, dada la alta tasa metabólica aeróbica que ocurre en este proceso. Este proceso es mediado por la enzima NADPH oxidasa, localizada en la membrana de la vacuola fagocítica, la cual cataliza la reacción de conversión de NADPH a  $\text{NADP}^+ + \text{H}^+$ , utilizando como aceptor de electrones a  $2\text{O}_2$ , formando  $2\text{O}_2^-$ , los cuales son precursores de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\bullet\text{HO}$ , todas las cuales producen daño a macromoléculas del patógeno (Cascales, 2005; Held, 2010).
- Actividad física: Otra importante fuente endógena es la realización de ejercicio. Durante la práctica de una actividad física, se produce un aumento del consumo de oxígeno que se traduce en una mayor formación de RL por la mitocondria. Si el ejercicio aeróbico es profuso, la cantidad de RL producida puede superar a la capacidad antioxidante, generando estrés oxidativo (Powers *et al.*, 2008; Arquer *et al.*, 2010; Djordjevic *et al.*, 2011).

- Fuentes exógenas: La exposición a químicos o fuentes físicas del medio ambiente como alcohol, humo del cigarro, metales pesados, pesticidas, rayos ultravioleta, altas temperaturas o drogas como el paracetamol, pueden generar RL en el organismo (Pham-Huy *et al.*, 2008).

#### 6.2.4 Síndrome metabólico y estrés oxidativo

Se ha visto una importante asociación entre los criterios categóricos de la NCEP ATP-III, de tal modo que la RI, HTA, DLP y OV, son características que desencadenan un estado inflamatorio sistémico y un desbalance homeostático Redox (Guerrero-Romero *et al.*, 2006), por lo tanto, se definen como los componentes del síndrome metabólico.

##### A) Resistencia insulínica

Se define resistencia insulínica como una disminución en la acción metabólica de esta hormona secretada por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans del páncreas. Principalmente se evidencia en la alteración de su acción relativa a la homeostasis de la glucosa, de modo que patológicamente, cesa su función en los órganos diana en los cuales realiza su labor: músculo, hígado, endotelio, tejido adiposo, entre otros (Maiz, 2005).

En estadíos tempranos de la RI, aparece hiperglucemia postprandial derivada de una disminución en la compensación hiperinsulinémica y en estados más avanzados aparecen índices glucémicos elevados en ayuno ( $> 100$  [mg/dl], según NCEP ATP-III).

La insulina favorece la glucogenólisis y la translocación y síntesis de los transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT-4), importantes en el proceso de internalización de glucosa. Por lo tanto, se ve truncada la posterior utilización de esté glúcido como sustrato metabólico (Yu J. *et al*, 2016).

La RI puede derivarse de defectos relacionados al receptor de insulina o por trastornos de su acción de la cascada de señalización derivada del acoplamiento receptor-insulina. En un gran porcentaje de los individuos que padecen resistencia a la insulina, existen defectos en la cascada de señalización post acoplamiento receptor-insulina, tales como el sustrato del receptor de insulina tipo 1 (IRS-1), proteinkinasas, glicógeno sintetasa, etc, los cuales se ven favorecidos fenotípicamente por el estado de OV y por los hábitos de vida poco saludables como el tabaquismo y sedentarismo.

La gran mayoría de los individuos con RI padecen de OV, expresándose esta condición en más de un 80% de los casos. La formación tisular de adipocitos viscerales conlleva un incremento en la actividad endocrina lipídica, liberando al torrente sanguíneo concentraciones elevadas de factor de necrosis tumoral  $\alpha$

(TNF $\alpha$ ), además de otras moléculas pro-inflamatorias, y de ácidos grasos libres (AGL), el cual tiene una importante incidencia en la fisiopatología de la RI muscular, ya que este ácido graso promueve la fosforilación de IRS-1 en su sitio serina, inhibiendo la translocación de GLUT-4 dependiente de fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K), favoreciendo un estado hiperglucémico, hiperinsulinémico compensatorio y el progresivo deterioro de las células  $\beta$ -pancreáticas, evento que representa el pináculo de la expresión de la DM-II (Shepherd *et al.*, 1999).

#### Resistencia insulínica y estrés oxidativo

Se ha observado que los niveles en plasma de metabolitos del estrés oxidativo se encuentran incrementados en sujetos con DM-II, comparados con sujetos sin esta condición, y a su vez, estos niveles elevados son inversamente proporcionales al control metabólico de los niveles de glucosa en sangre (Nourooz-Zadeh *et al.*, 1997). Más recientemente se ha visto asociaciones positivas entre estos dos factores, evidencia que reafirma una relación directa entre la RI y EO (Park *et al.*, 2009).

En cultivos celulares musculares y de adipocitos, además de estudios en ratas, se ha observado que exposiciones prolongadas a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, disminuye marcadamente el metabolismo de la glucosa estimulado por insulina, en general debido a la intervención oxidativa de esta molécula en los procesos de señalización celular, específicamente alterando la cascada de señalización

insulínica dependiente de PI3K (Rudich *et al.*, 1997; Henriksen, 2005) probablemente debido a mecanismos dependientes de la proteína kinasa activada por mitógenos p38 (MAPK p38) (Blair *et al.*, 1999), provocando la fosforilación en tirosina de IRS-1, produciendo la fosforilación serina de la proteína kinasa serina/treonina (AKT), importante molécula involucrada en el proceso de translocación de GLUT-4 (Henriksen, 2005) y disminuyendo la expresión génica de este transportador (Rudich *et al.*, 1998).

El incremento del estrés oxidativo en relación al estado hiperglucémico, está relacionado a que este último necesariamente involucra una mayor tasa de auto-oxidación de glucosa, evento que genera  $\bullet\text{HO}$  y además un incremento en la producción de ATP por la cadena transportadora de electrones mitocondrial, lo que conlleva también una sobreproducción de  $\text{O}_2^-$  (Golbidi *et al.*, 2012).

## B) Hipertensión Arterial

La HTA se ve representado por un tono arterial sistólico  $> 130$  [mm/hg] y diastólico  $>85$  [mm/hg] (NCEP ATP-III). Se caracteriza por presentar un incremento del componente vasoconstrictor y una disminución de vasodilatación, además de un engrosamiento de las paredes arteriales y por lo general, el 90% de los casos la HTA es clasificada como primaria, salvo determinados casos donde es consecuencia de un aldosteronismo primario,

apnea obstructiva del sueño o enfermedad renovascular (Onusko, 2003). En el desarrollo de esta condición, la microvasculatura contribuye importantemente, debido a que las pequeñas arterias y arteriolas determinan la resistencia periférica que se expresa en la presión arterial.

Fisiopatológicamente se observa un incremento en el estado inflamatorio sistémico, mediado por citoquinas pro-inflamatorias como TNF $\alpha$  (Tintut *et al.*, 1998) y principalmente proteína C reactiva (PCR) (Lakoski *et al.*, 2005; Tan Xu *et al.*, 2008), en consecuencia se observa un incremento en los depósitos de calcio, además de la pérdida de la integridad del componente de elastina de las paredes vasculares y de un incremento en la rigidez y fragilidad, derivado del progresivo depósito adaptativo de colágeno fibrilar intersticial y perivascular (Flamant *et al.*, 2007). Por último, se observa una disminución de la biodisponibilidad de óxido nítrico endotelial, lo que genera una disminución del componente vasodilatador y una consecuente hipertrofia de la musculatura lisa arteriolar (Baumbach *et al.*, 2004).

Una de las posibles consecuencias de la HTA, es la aparición de rigidez de las capas íntima y media de las arterias, que en sujetos con altos índices de OV puede generar aterosclerosis. Otra consecuencia es el incremento en la rigidez e hipertrofia de las paredes arteriolas, lo que se denomina

arteriosclerosis. Ambos representan un factor de riesgo en la aparición de patologías cardiovasculares (O'Rourke *et al.*, 1995).

Cada vez existe mayor evidencia de la relación entre la OV, DM-II e HTA (Morigami *et al.*, 2016; Bouchi *et al.*, 2016). Rowe *et al.* en 1981 observaba que índices elevados de insulina circulante pueden desencadenar una descarga adrenérgica mediada por noradrenalina, con un consecuente aumento del tono simpático vasomotor, además de un incremento en el gasto cardíaco. En adición, el estado hiperinsulínico favorece la reabsorción renal de sodio y agua, específicamente en el túbulo contorneado distal, debido a una incrementada actividad de la bomba Na/H. De este modo la biodisponibilidad de sodio se acrecienta en el sistema cardiovascular, promoviendo un aumento de la volemia y por ende de la presión arterial (Mendizábal *et al.*, 2013). Como se revisó en el apartado anterior, la OV conlleva un incremento en señalización endocrina del tejido adiposo, liberando AGL al torrente sanguíneo. Además, se ha visto que se promueve la secreción de leptinas, hormonas peptídicas involucradas en el mecanismo de saciedad, inhibiendo el apetito. Ambas moléculas activan el sistema nervioso simpático, incrementando los valores de tensión arterial, y en el caso de las leptinas, su mecanismo de acción se relaciona a la estimulación de los centros hipotalámicos mediados posiblemente por sistemas de neuropéptidos como la hormona liberadora de corticotropina (Carlyle *et al.*, 2002; Lemche *et al.*, 2016).

## Hipertensión arterial y estrés oxidativo

Como se ha visto previamente, el proceso inflamatorio juega un importante rol en el desarrollo de HTA. La inflamación consiste en un intrincado proceso de respuesta metabólico frente a alguna noxa o infección, con el objetivo de reparar el tejido o eliminar algún patógeno. Dentro de las células participativas de este proceso inmune, encontramos a los neutrófilos y macrófagos, los cuales, como mecanismo de respuesta y eliminación de patógenos, utilizan un complejo denominado NADPH oxidasa como principal fuente de ERO, produciendo especies tales como  $O_2^-$  y  $H_2O_2$ . Normalmente este estado oxidativo controlado cesa al terminar el proceso infeccioso. Sin embargo, en estados de inflamación crónica, puede existir un desequilibrio, ocasionando estrés oxidativo (Dihn *et al.*, 2014).

Una importante consecuencia fisiopatológica de la producción de  $O_2^-$ , es que, en presencia de NO, una molécula vasodilatadora por excelencia, se genera  $ONOO^-$ , reacción que por ser más rápida que la dismutación de SOD, inhibe a su vez la recuperación del equilibrio Redox (Huie, 1993). La producción de  $ONOO^-$  produce entonces un incremento en el estado oxidativo, pero también un desequilibrio vascular, ya que inhibe la acción de la NO en el endotelio, provocando estados hipertensivos, debido a que inhibe la acción e eNOS por la oxidación de  $BH_4$ , un cofactor de eNOS, lo que en consecuencia produce un

desacoplamiento de esta enzima, provocando que esta a su vez genere  $O_2^-$  en vez de NO (Vásquez-Vivar *et al.*, 1998).

Este círculo vicioso, produce a su vez mayor inflamación, ya que el EO puede producir factores inflamatorios tales como factor nuclear kappa B (NF-kB) (Canty *et al.*, 1999) y PCR (Yasunari *et al.*, 2002), o elementos que a su vez incrementan el estado hipertensivo.

### C) Obesidad Visceral

Se define como OV, a la grasa que está contenida en la región interna de las cavidades corporales, envolviendo órganos principalmente abdominales, y está compuesta por la grasa mesentérica y la grasa de los epiplones, en conjunto, denominada grasa ectópica (Golbidi *et al.*, 2012). En sujetos sanos, los depósitos de grasa visceral representan cerca del 20% del total de grasa corporal en el hombre y aproximadamente el 6% en la mujer (Godínez *et al.*, 2002).

Existen múltiples criterios de medición, sin embargo, la cuantificación del perímetro de la cintura ha resultado ser la más utilizada, por su simpleza y alta correlación con los índices de adiposidad central (Tsukiyama *et al.*, 2016). De acuerdo a la NCEP ATP-III, un incremento de la circunferencia de cintura  $\geq 88$

[cm] en los varones y  $\geq 83$  [cm] en las mujeres es aceptado como componente clave de SM.

Debido al incremento en la masa de células adiposas, el organismo está predispuesto a la generación de enfermedades cardiovasculares como aterosclerosis, patologías hepáticas e incluso cáncer (Avogaro *et al.*, 2005). Actualmente es reconocida como una pieza clave del desarrollo del SM, ya que favorece el desarrollo de RI, DM-II, HTA y DLP (Matsuda *et al.*, 2015). Por lo tanto, la obesidad influencia directamente a los índices de muerte prematura, acortando los años de vida (Peeters *et al.*, 2003).

Un incremento en los depósitos de tejido adiposo producto de una elevada ingesta de AGL produce un incremento en el estado inflamatorio sistémico (Matsuda *et al.*, 2013). El tejido adiposo hipertrofiado, además de poseer adipocitos, se encuentra altamente vascularizado, presenta fibroblastos, neuronas, células madres y células del sistema inmune (Cohen *et al.*, 2016).

Estas células inmunitarias, tales como células dendríticas, macrófagos y monocitos, entre otros tipos, juegan un importante rol en la fisiopatología de esta enfermedad, dado la incrementada síntesis de TNF $\alpha$  y otras citoquinas pro-inflamatorias, como interleucina 6 (IL-6) y la proteína quimiotáctica de monocitos tipo 1 (MCP-1) (Rajan *et al.*, 2016; Golbidi *et al.*, 2012; Weisberg *et*

*al.*, 2003). Se cree que la importancia de la presencia de estas células inmunes en el tejido adiposo, radica en el remodelamiento tisular, activación de adipocitos beige (importantes para el control metabólico del tejido adiposo, ya que favorecen el metabolismo calórico, favorece la sensibilidad a insulina y disminuye la inflamación) y por supuesto, para su función inmunitaria (Nguyen *et al.*, 2011, Cohen *et al.*, 2016).

Un importante foco de daño producto del incremento de la masa adiposa visceral, es el endotelio (Kershew *et al.*, 2004). El endotelio vascular tiene un importante rol en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular. Otorga una barrera entre las paredes vasculares y su lumen, pero además se encarga de secretar una serie de hormonas y mediadores que regulan la agregación plaquetaria, coagulación, fibrinólisis y el tono vasomotor. Este último es regulado por moléculas como endotelina-1 (ET-1) y tromboxano A<sub>2</sub>, las cuales generan vasoconstricción, y por otro lado NO y prostaciclina que generan vasodilatación (Stuerh, 1998; Avogaro *et al.*, 2005).

El principal receptor de NO a nivel de la musculatura lisa vascular, es la guanililciclase (GC) sensible a NO. La porción soluble de GC luego estimula la producción de monofosfato de guanosina cíclico (GMPc), el cual es el responsable de la mayoría de las respuestas intracelulares, activando una serie

de kinasas dependientes de GMPc, las cuales además de favorecer la vasodilatación, inhiben la agregación plaquetaria (Avogaro *et al.*, 2005).

Un incremento en la masa adiposa abdominal tiene efectos directos sobre el endotelio, ya que la superproducción endocrina de TNF $\alpha$  e IL-6 por parte del tejido adiposo visceral, actúan como factores quimiotácticos pro-inflamatorios, favoreciendo la infiltración de macrófagos al interior de las células de musculatura lisa, produciendo modificaciones derivadas de la inflamación (Xu H. *et al.*, 2003). Además, el TNF $\alpha$ , estimula la transcripción nuclear de NF-kB, el cual induce inflamación, apoptosis, expresión de factores de crecimiento, citoquinas pro-inflamatorias y moléculas de adhesión (Mercurio *et al.*, 1999). Por último, TNF $\alpha$ , inhibe la transcripción y genera modificaciones post transcripcionales de la expresión genética de eNOS, provocando disfunción endotelial (Anderson *et al.*, 2003). Por lo tanto, un incremento en el tejido adiposo visceral se relaciona intrínsecamente a un estado hipertensivo pro-inflamatorio (Sverdlov *et al.*, 2016).

### Obesidad visceral y estrés oxidativo

Un incremento en la ingesta de AGL conlleva un aumento en el almacenamiento de estos, pero también en el metabolismo para su aprovechamiento calórico. Una concentración elevada de AGL intracelular,

provoca un incremento de su oxidación en la mitocondria, ya sea por  $\beta$ -oxidación o mediada por acetil coenzima-A en el ciclo del ácido tricarboxílico. De cualquier de las dos formas, debido a la gran biodisponibilidad de AGL, se producen niveles sustancialmente elevados de NADH y FADH<sub>2</sub>, coenzimas que, como donadoras de electrones mitocondriales, favorecen la sobre producción de O<sub>2</sub><sup>-</sup>, y por ende un consecuente estado de desequilibrio Redox (Brownlee *et al.*, 2005).

La mantención de un estado de estrés oxidativo en el tejido adiposo, genera tres consecuencias directas. Por un lado, se produce una disminución en la expresión genética de adiponectinas, lo que conlleva una disminución en la sensibilidad a insulina de ciertos tejidos y una disminución en el metabolismo de ácidos grasos y glucosa. Además, produce un elevado índice de expresión genética de adipocitoquinas como IL-1, MCP-1 y TNF $\alpha$ , entre otras, las cuales actúan como factores quimiotácticos para monocitos y macrófagos. Por último, favorece la expresión de NADPH oxidasa en adipocitos (Furukawa *et al.*, 2004).

A lo anterior, se añade el hecho de que los adipocitos liberan AGL al torrente sanguíneo. Este suceso conlleva una estimulación a macrófagos, los cuales liberan factores pro-inflamatorios como TNF $\alpha$ , que favorecen fenómenos de lipólisis e inflamación (Suganami *et al.*, 2005). Por otro lado, estos AGL favorecen la síntesis de diacilglicerol, molécula que induce a la proteína kinasa

C, generando que esta, a su vez, active al complejo NADPH oxidasa, favoreciendo la producción de  $O_2^-$  (Inoguchi *et al.*, 2000).

En consecuencia, se puede hablar de un ciclo de retroalimentación paracrina deletéreo, que se inicia con una ingesta elevada de AGL, que provocan un desequilibrio Redox por la sobreproducción de  $O_2^-$ . Luego, el EO generado produce un incremento de adipocitoquinas, atrayendo y estimulando células del sistema inmune, las cuales generan una inflamación crónica y lipólisis, que a su vez, induce un incremento de ERO.

#### D) Dislipidemia

La DLP es un término que engloba a una serie de alteraciones cuantitativas y cualitativas de lípidos plasmáticos en sangre venosa. Según NCEP ATP III, 2004, corresponde a una elevación de TG  $\geq 150$  [mg/dL] (1,7 [mmol/l]), y una concentración del HDL  $< 40$  [mg/dL] (0,9 [mmol/l]) en los varones y  $< 50$  [mg/dL] (1,1 [mmol/l]) en las mujeres.

Estas moléculas presentes en el plasma sanguíneo se denominan lipoproteínas, y como su nombre lo indica, son complejos compuestos de lípidos y proteínas, cuya función recae en el transporte de colesterol, fosfolípidos y TG en sangre, debido a la naturaleza hidrófoba de estas. Se clasifican de acuerdo a

su densidad: en orden decreciente encontramos a las lipoproteínas de alta, baja, muy baja densidad (HDL, LDL, VLDL, respectivamente) y remanentes de quilomicrones (RQ), representando un contenido de 60% a 70%, 20% a 30% y 10% a 15% del total de colesterol sérico respectivamente, y la diferencia de RQ.

Los niveles de colesterol en la sangre y su metabolismo están determinados, en parte, por las características genéticas del individuo y además por los hábitos de vida, tales como la dieta, el balance calórico y el nivel de actividad física.

Los quilomicrones son los encargados de transportar colesterol, fosfolípidos y triglicéridos de la ingesta alimenticia al hígado y músculos, mientras que los RQ son metabolizados en el hígado. Las VLDL tiene la función de aportar TG y colesterol a los tejidos periféricos, provenientes del hígado. Por último, las HDL tienen la función de transportar el colesterol desde los tejidos hacia el hígado, lugar donde se inicia el proceso de excreción de este, mediado por el sistema enzimático citocromo p450 (MINSAL, 2000; Pikuleva *et al.*, 2013)

La DLP es una patología que se relaciona intrínsecamente con el fenómeno de RI y la sobreproducción hepática de VLDL pareciera ser el defecto primario que relaciona ambas condiciones metabólicas. La RI tiene por consecuencia la imposibilidad de inhibición en la producción de glucosa por parte del hígado y en la liberación de ácidos grasos no esterificados por el tejido adiposo, además altera la captación de glucosa por el tejido muscular y tejido adiposo. Estas

condiciones determinan un incremento en la entrada de glucosa y ácidos grasos no esterificados al hígado, los cuales sirven de estímulo en la producción de VLDL (Ruotolo, 2002). Otro factor que favorece la producción de VLDL derivado de la RI en ratas, es la disminución en la degradación de la apolipoproteína B-100 (apo B-100), la cual es incorporada en los precursores que dan origen a la VLDL. Esto ocurre en un contexto inflamatorio, donde factores como el TNF $\alpha$  alteran la cascada de señalización de insulina y estimula la sobreproducción de apo B-100 para formar VLDL, ya sea durante el ayuno, como en la etapa postprandial (Quin *et al.*, 2012).

Actualmente se sabe que las LDL y VLDL son importantes agentes generadores de patología cardiovascular, ya que inducen la formación de placa ateromatosa (Parthasarathy *et al.*, 2010). La aterosclerosis es una enfermedad de las arterias de mayor y mediano calibre, en las que surgen depósitos de grasa en la capa íntima arterial. En un estado inflamatorio crónico, como el experimentado durante el desarrollo del síndrome metabólico, se produce un daño a nivel del endotelio vascular que tiene por consecuencia una disminución en su capacidad de producir NO. Por otra parte, el endotelio responde aumentando la expresión de moléculas pro-inflamatorias y moléculas de adhesión que favorecen la acumulación de plaquetas, monocitos y macromoléculas, tales como lípidos circulantes, principalmente en su forma LDL y VLDL. Los monocitos entonces migran al espacio subendotelial donde se diferencian a macrófagos, los cuales

fagocitan y oxidan a las lipoproteínas. Estas LDL<sub>ox</sub> se acumulan al interior de los macrófagos, generando una diferenciación de estos en células espumosas macrofágicas, que se agregan a las paredes vasculares, formando la estría grasa visible (Guyton & Hall, Tratado de fisiología médica 12<sup>a</sup> edición, 2011).

#### Dislipidemia y estrés oxidativo

Dentro de los factores de riesgo de riesgo cardiovascular, la LDL<sub>ox</sub> representa uno de los más importantes generadores de aterosclerosis, debido a que favorece la formación de placa ateromatosa e induce múltiples actividades pro-inflamatorias que perpetúan el estado aterosclerótico (Asztalos *et al.*, 2009), además de mediar la activación de factores como NF-κB, molécula importante en procesos de apoptosis, inhibir la producción de NO y favorecer la producción de ERO a través de óxidos de nitrógeno (Steyers & Miller, 2014).

### **6.3 EJERCICIO FÍSICO**

Un importante factor que posee beneficios para la salud, asociado con una disminución en la amenaza de todas las causas de muerte relativas al riesgo cardiovascular, cáncer y diabetes, es la realización de ejercicio físico regular (Blair *et al.*, 2001).

Se ha observado que el ejercicio posee un factor protector de enfermedades cardiovasculares, además de favorecer el equilibrio Redox y homeostasis de múltiples factores, tales como NO, perfil lipoprotéico, capacidad AO, etc. (Henriksen E., 2007; Casillas J.M *et al.*, 2007).

Según la OMS (2016), la actividad física se define como “cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos, con el consiguiente consumo de energía. Ello incluye las actividades realizadas al trabajar, jugar y viajar, las tareas domésticas y las actividades recreativas” y no se debiese confundir con ejercicio, que es una “subcategoría de actividad física que se planea, está estructurada, es repetitiva y tiene como objetivo mejorar o mantener uno o más componentes del estado físico”. Por el contrario, el sedentarismo producto de la inactividad física, se caracteriza por la ausencia del desarrollo de las actividades previamente mencionadas, y se considera uno de los principales factores de riesgo de mortalidad en países desarrollados y en vías de desarrollo (OMS 2016). La OMS recomienda para la población adulta, la realización de al menos 150 minutos de actividad física moderada semanal.

De lo anterior se desprende que el ejercicio físico forma parte de la actividad física, y esta como tal, tiene múltiples beneficios para la salud. Desde el punto de vista del síndrome metabólico, el ejercicio regular mejora el metabolismo lipídico, la presión arterial, la sensibilidad a la insulina, la función endotelial y los

factores homeostáticos, reduciendo la incidencia de enfermedades coronarias, independientemente de otros cambios en el estilo de vida (Ramos *et al.*, 2015). En relación a la enfermedad aterosclerótica, una patología íntimamente relacionada al estado dislipidémico y estrés oxidativo, el ejercicio aeróbico disminuye y previene su aparición gracias al incremento del metabolismo lipídico, debido a la reducción del área de lesión aterosclerótica por estabilización de la placa ateromatosa (Napoli *et al.*, 2006). Esto se logra en parte, gracias al incremento del tráfico reverso de colesterol, un sistema anti-aterogénico que promueve la migración de colesterol a través de los macrófagos, desde el sistema cardiovascular al hígado, para ser eliminado vía biliar por las heces (Ramos *et al.*, 2015).

Sin embargo, el ejercicio físico se comporta como una fuente pro-oxidativa. Este suceso es considerado paradójico, ya que el aumento en el consumo de oxígeno durante el ejercicio podría ser perjudicial, por la sobreproducción de RL, generando daño a las principales macromoléculas del organismo, como proteínas, lípidos y ADN (Powers *et al.*, 2008; Sachdev & Davies, 2008; Fernández *et al.*, 2009; Arquer *et al.*, 2010).

### 6.3.1 Ejercicio físico y estrés oxidativo

La realización de ejercicio físico genera un incremento en el metabolismo del organismo, por lo tanto, una mayor tasa de consumo de oxígeno que se traduce en una mayor producción de  $O_2^-$  mitocondrial (Brand, 2010). Durante el desarrollo de la una actividad física, el incremento en la frecuencia de contracción muscular y, por ende, de su metabolismo, generarían niveles incrementados de ERO; sin embargo, durante el desarrollo de una actividad física, muchos sistemas que están ligados al aumento metabólico para la contracción de los músculos esqueléticos, también estarían favoreciendo su producción, por ejemplo: corazón, pulmones y leucocitos, estos últimos, en caso de que haya una lesión o micro lesiones durante el desarrollo del ejercicio que desencadenaran una respuesta inflamatoria (Sachdev & Davies, 2008).

Durante la contracción del músculo esquelético, los mayores sitios de producción de RL son (Powers *et al.*, 2008):

- Mitocondria: Genera  $O_2^-$  en los complejos I y III de la cadena respiratoria de electrones de la membrana interna.
- Retículo sarcoplasmático: Media la producción de  $O_2^-$  por NADPH oxidasa, relacionada a la oxidación del receptor de rianodina y su consecuente liberación de calcio.

- Túbulos transversos: Genera  $O_2^-$  por NADPH oxidasa, la cual presentaría un incremento en su actividad durante el proceso de despolarización de este organelo.
- Membrana plasmática: Asociado a NADPH y NADH oxidasa, las cuales se encuentran asociadas a sistemas Redox capaces de llevar a cabo la transferencia de electrones a través de la membrana plasmática y en consecuencia generar  $O_2^-$ .
- Procesos dependientes de fosfolipasa  $A_2$ : Esta enzima cliva a los fosfolípidos de membrana con la subsiguiente producción de ácido araquidónico, el cual es sustrato de enzimas generadoras de ERO, como las lipoxigenasas.
- Células fagocíticas: Durante el desarrollo de una actividad física, el músculo puede presentar daño mecánico, el cual se traduce en una respuesta inflamatoria mediada por el sistema inmune, que conlleva un incremento en la producción de ERO.
- Xantina oxidasa: Esta enzima, presente en bajas concentraciones en el músculo esquelético y en mayor medida en el endotelio, también está involucrada en la producción de  $O_2^-$ , favoreciendo la conversión de xantina en ácido úrico (Sachdev & Davies, 2008).

- Óxido nítrico sintetasa: nNOS y eNOS, producen NO durante la contracción muscular. Esta molécula puede reaccionar para formar ONOO<sup>-</sup> y generar daño oxidativo (Fernández *et al.*, 2009).

No obstante, la paradoja del ejercicio involucra también una regulación positiva de las defensas antioxidantes. El ejercicio físico crónico, especialmente el de resistencia, genera un incremento metabólico oxidativo de las células musculares con la consecuente producción de ERO. Sin embargo, ante una mayor producción de RL, el organismo puede adaptarse aumentando la capacidad antioxidante endógena, existiendo una relación directa de este fenómeno con la intensidad de la actividad física realizada y la duración del programa de entrenamiento. Este efecto sería similar al de una vacuna, donde el organismo es expuesto a un agente deletéreo y este a su vez responde incrementando las defensas (Arquer *et al.*, 2010). De ahí el concepto de hormesis toma un rol fundamental en la respuesta adaptativa frente a un estímulo de estrés oxidativo provocado por el ejercicio físico.

La hormesis se refiere al fenómeno de que una exposición o exposiciones repetidas de una toxina que pueden provocar cambios adaptativos dentro del organismo para resistir dosis más altas de toxina con daño reducido. El músculo esquelético muestra una considerable plasticidad y adaptaciones en respuesta al de ejercicio agudo o entrenamiento crónico, especialmente en la capacidad de defensa antioxidante y funciones metabólicas principalmente debido a la

remodelación de las mitocondrias y la activación transcripcional. Por tanto, se ha planteado la hipótesis de que la producción inducida de especies reactivas de oxígeno (ROS) por la contracción puede estimular la respuesta adaptativa para atenuar los procesos patológicos y generar a largo plazo bienestar en el individuo (Ji LL, 2016).

### 6.3.2 Ejercicio físico y síndrome metabólico

Un individuo con síndrome metabólico va a presentar una alteración del equilibrio homeostático de varios sistemas: se experimentará un estado hipertensivo y proinflamatorio, además de una disminución en la sensibilidad a la insulina. Encontraremos una disminución en la actividad de la lipoproteína lipasa, por ende, menor cantidad de AGL disponibles como sustrato metabólico. Sumado a esto, se generarán niveles incrementados de factores lipídicos como Q y RQ, VLDL, además de LDL y por ende LDL<sub>ox</sub>, los cuales van a favorecer la adiposidad periférica, produciendo OV y abdominal, además de aterosclerosis. Frente al ejercicio, estas situaciones se revierten, se experimentan mejoras de todos los factores antes mencionados: encontramos un aumento de AGL por lipólisis que serán metabolizados por las células musculares, un incremento de niveles plasmáticos de HDL y una disminución de LDL y VLDL, un acrecentamiento de la sensibilidad de la insulina a sus receptores, por ende, un aumento del metabolismo de hidratos de carbono y lípidos, y una mejora en la

función cardiovascular. También se favorece un aumento en la expresión génica de SOD, CAT, GPx, y una eficiencia en la metabolización de ERO (Kriswell *et al.*, 1993; Huffman, 2006; Halverstadt *et al.*, 2006; Napoli *et al.*, 2006; Johnson *et al.*, 2007; Casillas *et al.*, 2007; Henriksen *et al.*, 2007; Li Ji *et al.*, 2007; Moraga, 2008; Powers *et al.*, 2008; Arquer, 2010; Golbidi *et al.*, 2012; Pittaluga *et al.*, 2015; Yu *et al.*, 2016).

#### A) Ejercicio y resistencia insulínica

Existen al menos dos vías mediante las cuales se favorece la difusión de glucosa desde el plasma sanguíneo a los tejidos: uno es mediante los efectos derivados de la unión de insulina a su receptor de membrana y otro activado por la contracción muscular o hipoxia (Hayashi *et al.*, 1997). En las personas con resistencia a la insulina, las vías de señalización derivadas del acoplamiento insulino-receptor, como la fosforilación de IRS-1 por la tirosina asociada al receptor, la actividad de la PI3K y la kinasa AKT, se ven truncadas. No obstante, la actividad física regular mejora esta condición, y los mecanismos moleculares relacionados a este fenómeno, están relacionados a un incremento en la expresión y actividad de enzimas y proteínas involucradas en el metabolismo de glucosa y grasa en el musculo (Golbidi *et al.*, 2012).

Otro efecto importante de la realización de ejercicio, es el incremento de la expresión de la proteína 1 $\alpha$  coactivadora del receptor activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR $\alpha$ ). Esta proteína está involucrada en la regulación transcripcional de múltiples genes involucrados en el metabolismo energético celular, participando en la biogénesis mitocondrial, en el metabolismo de carbohidratos y lípidos, en el remodelamiento adaptativo de las fibras musculares tipo II (glucolíticas) para volverse tipo I (oxidativas) y, además, aumenta la expresión de GLUT-4 (Puigserver & Spiegelman, 2003; Holloszy, 2008).

#### B) Ejercicio e hipertensión arterial

La realización de ejercicio posee múltiples efectos antihipertensivos: regula la presión sanguínea y mejora su control homeostático, además la disminución de peso asociado al ejercicio, también favorece una disminución de la presión arterial. Estos efectos se deben a cambios funcionales y estructurales del sistema vascular, a modulaciones del sistema renina-angiotensina-aldosterona y a la reducción de la estimulación simpática mediada por leptinas, las cuales se ven incrementadas en expresión en personas obesas (Golbidi *et al.*, 2012; Mendizábal *et al.*, 2013).

Un importante efecto del ejercicio, es el acrecentamiento en la expresión de eNOS, debido principalmente al aumento del gasto cardíaco y del flujo sanguíneo, que en consecuencia produce un incremento en las fuerzas en cizalla aplicadas a las paredes de la vasculatura (Fleming *et al.*, 2003). La consecuente producción endotelial de NO, favorece la vasodilatación y además favorece la expresión de SOD1 y SOD3, inhibiendo por ende la formación de ONOO<sup>-</sup> que pudiese llevar a EO (Golbidi *et al.*, 2012). Otro efecto secundario a la realización de actividad física, es la disminución en la expresión de ET-1, con su consecuente incremento en la distensibilidad de la vasculatura (Maeda *et al.*, 2003; Maeda *et al.*, 2004).

### C) Ejercicio y obesidad visceral

El ejercicio tiene un importante efecto en el metabolismo lipídico, favoreciendo la degradación de grasa por sobre la pérdida de proteínas musculares, lo cual posee un doble impacto positivo, pues favorece también la utilización de glucosa como sustrato metabólico por los músculos. Esta pérdida de tejido adiposo, favorece un incremento en la expresión de adiponectinas, favoreciendo también el metabolismo de glucosa y ácidos grasos. Otro efecto positivo del ejercicio en relación a la OV, es el incremento en la expresión de IL-6 por parte del músculo, lo cual, a diferencia de la IL-6 expresada por células fagocíticas, posee efectos antiinflamatorios, inhibiendo TNF $\alpha$ , IL-1 e IL-10

(Golbidi *et al.*, 2012). Este efecto antiinflamatorio es importante, ya que el tejido adiposo actúa manteniendo un estado proinflamatorio leve, que es precursor de enfermedades como RI, DM-II y aterosclerosis (Brandt & Pedersen, 2010).

#### D) Ejercicio y metabolismo de lípidos

Como consecuencia del ejercicio se genera un incremento en la capacidad oxidativa de los músculos esqueléticos, lo que conlleva un aumento del índice de oxidación de las moléculas adiposas de nuestro organismo, esto gracias a un incremento post-ejercicio de la expresión de proteínas transportadoras de ácidos grasos libres, disminuyendo por ende los niveles en plasma. Por otro lado, la actividad física favorece la activación de vías dependientes de AMPK, estimulando la oxidación de ácidos grasos, la difusión de glucosa y la biogénesis mitocondrial (Golbidi *et al.*, 2012).

#### 6.3.3 Ejercicio aeróbico, interválico y de resistencia muscular

La actividad física de intensidad moderada es recomendable para las personas que quieran mantener una vida saludable, debido a que sus efectos sobre la prevención y la mejora de la salud incrementan la capacidad funcional (Ignarro *et al.*, 2007), permitiendo un aumento de los años de vida activa independiente y mejorando la calidad de vida de las personas (Topp *et al.*, 2005). Sin

embargo, se recomienda la abstención en la realización de ejercicio físico intenso a los pacientes obesos y con HTA.

El entrenamiento basado en ejercicios físicos aeróbicos interválicos, provoca adaptaciones con gran celeridad, por lo cual deben ser considerados con detenimiento ya que el sistema cardiovascular se adapta rápidamente al ejercicio. Esta modalidad maximiza el consumo de calorías y permite realizar una mayor cantidad de ejercicios total con mayor intensidad y en intervalos de una duración tolerable (Rognmo *et al.*, 2004; Gómez *et al.*, 2010).

Investigaciones actuales, han demostrado los beneficios del entrenamiento a través de ejercicios interválicos en personas con riesgo cardiometabólico (Stensvold *et al.*, 2010). Para los pacientes, es más sencillo resistir intervalos relativamente cortos de ejercicios de alta intensidad, que aquellos ejercicios realizados de manera continua, permitiendo a su vez trabajar a niveles altos de esfuerzo con relativa comodidad (Billat, 2001). Por otro lado, el ejercicio físico contra resistencia se ha documentado como una herramienta útil para disminuir el EO en el sobrepeso de sujetos mayores (Parise *et al.*, 2005) (Vincent *et al.*, 2006)

En este sentido, la aplicación de un protocolo de ejercicio físico interválico que garantice el desarrollo de alternancia entre cargas y pausas, con cortos

períodos de mayor intensidad que los alcanzados en un ritmo constante, seguidos de un esfuerzo de recuperación a menor intensidad, posibilita obtener mayor control sobre el esfuerzo que realiza el paciente, con la finalidad de tener mayores beneficios sobre su patología (Rognmo *et al.*, 2004).

A raíz de lo anterior, surge la inquietud de evaluar los cambios en los parámetros de Redox en sujetos con SM, utilizando un protocolo de ejercicio aeróbico, interválico y de resistencia muscular, con el fin de proporcionar herramientas con sustento científico respecto a la actividad física en la población, que contribuyan a enlentecer la progresión de la patología.

## **7. HIPÓTESIS**

La aplicación de un protocolo de ejercicio aeróbico, interválico y de resistencia muscular, realizado a un grupo de personas pertenecientes al programa cardiovascular del CESFAM Placeres, generará una disminución de los marcadores pro oxidativos y un aumento en la respuesta antioxidante involucrada.

## **8. OBJETIVOS**

### **8.1 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de un protocolo de ejercicios aeróbicos, interválicos y resistencia muscular, sobre los parámetros de estrés oxidativo en pacientes adscritos al programa cardiovascular del CESFAM Placeres.

### **8.2 OBJETIVO ESPECÍFICO**

1. Determinar concentración de LDLox antes y después de la aplicación del protocolo de ejercicio físico, en pacientes con factores de riesgo cardiovascular del CESFAM Placeres, y a sujetos no sometidos al protocolo, con el fin de comprobar la influencia de este sobre la normalización de parámetro de desbalance oxidativo.

2. Determinar concentración de carbonilos proteicos antes y después de la aplicación del protocolo de ejercicio físico, en pacientes con factores de riesgo cardiovascular del CESFAM Placeres, y a sujetos no sometidos al protocolo, con el fin de comprobar la influencia de este sobre la normalización de parámetro de desbalance oxidativo.

3. Analizar los parámetros de perfil lipídico antes y después de la aplicación del protocolo de ejercicio físico, en pacientes con factores de riesgo cardiovascular del CESFAM Placeres, y a sujetos no sometidos al protocolo.
  
4. Comparar los datos obtenidos en la primera fase investigativa en relación al daño por lipoperoxidación, defensas enzimáticas (SOD, CAT) y no enzimáticas (TRAP), con los obtenidos en esta fase en relación a la oxidación de LDL, oxidación de proteínas y perfil lipídico.

## 9. MATERIALES Y MÉTODO

### 9.1 MATERIALES

Durante el presente estudio, se utilizaron los siguientes instrumentos:

- A) Notebook Hp Envy 13-d0011a.
- B) Software Microsoft Office Excel ®, versión 14.0.6123.5001, 2010.
- C) Software estadístico Statistica, versión 7, año 2002.
- D) Espectrofotómetro UV visible. Marca Rayleigh. UV-2601
- E) Lector de placas BIOTEK modelo EL-808
- F) Kit Mercodia oxidized LDL ELISA
- G) Medidor de pH JENCO 60
- H) Ultracentrífuga. Marca HETTICH. Modelo UNIVERSAL/K2S
- I) Muestras sanguíneas de 9 sujetos de la primera fase investigativa

## **9.2 MÉTODO**

### 9.2.1 Diseño del estudio

El presente estudio corresponde a un diseño cuasi-experimental, con una muestra no probabilística con mediciones pre y post intervención.

### 9.2.2 Población

La población en estudio la constituyen 2117 sujetos, usuarios del sistema de Atención Primaria de Salud y pertenecientes al Programa de Salud Cardiovascular (PSCV) del Centro de Salud Familiar (CESFAM) Placeres en la Región de Valparaíso, Chile, durante el año 2012-2013.

### 9.2.3 Muestra

La muestra seleccionada se determinó mediante elección de conveniencia de sujetos que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión. La recolección de la información para conformar los grupos de estudio se realizó por medio de revisión de las bases de datos y fichas clínicas de los sujetos con la debida aprobación del comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso (Anexo 1).

Posterior a ello se obtuvo un total de 322 sujetos elegibles para participar de la investigación, de los cuales 39 accedieron a ser informados en base a entrevistas telefónicas y convocatoria a charlas para explicación del proyecto. De un total de 27 usuarios efectivamente informados, 19 accedieron a participar del estudio de forma voluntaria mediante la firma del consentimiento informado (Anexo 2), de los cuales 10 sujetos abandonaron el estudio por motivos personales.

Por lo tanto, la muestra final del estudio se conformó por 14 sujetos sedentarios, de ambos géneros (2 hombres y 7 mujeres, de edades comprendidas entre los 51 y 77 años), usuarios del sistema de Atención Primaria de Salud, que poseen SM según criterios utilizados por el NCEP ATP III y la IDF con criterios C3 utilizados para la población chilena, y además que pertenezcan al PSCV del CESFAM Placeres ubicado en la Región de Valparaíso, Chile, durante el año 2012.

### 9.3 METODOLOGÍA

Previo a determinar la muestra definitiva, los sujetos contactados fueron invitados a participar del estudio mediante la firma de un consentimiento informado. Este documento (Anexo 2) contiene información para el sujeto acerca de las características y el propósito de este estudio, además de explicar su participación dentro del desarrollo de la investigación. El consentimiento informado utilizado en este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso. Cabe señalar que los sujetos que accedieron a participar firmaron voluntariamente el consentimiento, previa lectura completa de su contenido y tomando consciencia de las implicancias de su participación, tal y como se estipula en el mismo documento.

Una vez definida la muestra, se procedió a la distribución de los grupos según conveniencia del estudio y de manera no aleatorizada como se detalla a continuación:

- Grupo no intervenido (G0), a los cuales se les realizó un examen de sangre para determinar su perfil bioquímico. Luego de 4 meses se repitió el procedimiento.
- Grupo intervenido (G1), a los cuales se les realizó un examen de sangre para determinar su perfil bioquímico. Luego, se les aplicó un protocolo de

ejercicio aeróbico interválico y de resistencia muscular por un período de 3 meses. Al cumplir el 4 mes desde la realización del examen de sangre inicial, se repitió el procedimiento extracción.

Este protocolo consistió en la realización de una batería de pruebas antes de comenzar el periodo de intervención, la aplicación de un protocolo basado en ejercicios aeróbicos interválicos y de resistencia muscular (Anexo 3) durante 3 meses, y una batería de pruebas al finalizar el periodo de intervención. Se procederá a detallar cada una de estas secciones en los siguientes apartados.

- Examen de sangre para determinación de perfil bioquímico inicial: glucosa, colesterol, HDL, LDL, TG
- 3 meses de intervención, 3 veces por semana.
- 10 min. de calentamiento, 40% de la frecuencia cardíaca (FC) máx.
- 30 min. de ejercicio aeróbico interválico y de resistencia muscular entre 50% - 80% de FC máx.
- 10 min de recuperación hasta estabilización de FC de reposo y de fatiga según Escala de Borg (Anexo 4).
- Examen de sangre para determinación de perfil bioquímico final: glucosa, colesterol, HDL, LDL, TG.
- Segunda fase de investigación: Medición de TRAP, CAT y SOD de las muestras sanguíneas provenientes del examen inicial y final.

- Tercera fase de investigación: Medición de LDLox y carbonilos protéicos de las muestras sanguíneas provenientes del perfil bioquímico inicial y final.

#### **9.4 BATERÍA DE PRUEBAS**

Los datos de Laboratorio se obtuvieron de las muestras de sangre de los sujetos pertenecientes a ambos grupos, al inicio del estudio y a los 4 meses de ejecución del protocolo. Este procedimiento fue realizado por personal calificado del laboratorio CENTROMED Valparaíso, quienes determinaron analíticamente los niveles de, glucosa, colesterol total, TG, LDL y HDL.

En la fase investigativa previa a este estudio, parte de la sangre que se extrajo a los pacientes se llevó al Laboratorio de Investigación, Estrés Oxidativo de la Escuela de Kinesiología, Facultad de Medicina, de la Universidad de Valparaíso, donde se analizaron, parámetros oxidativos: de defensa AO enzimática (SOD y CAT) y no enzimática, dada por la capacidad AO total (TRAP).

En el presente estudio, tercera fase investigativa, se realizaron dos pruebas bioquímicas en las dependencias Laboratorio de Investigación – Estrés Oxidativo de la Escuela de Kinesiología, Facultad de Medicina, de la Universidad de Valparaíso, con el objetivo de determinar LDLox y carbonilos proteicos presentes en las muestras sanguíneas de los sujetos de estudio.

#### 9.4.1 Preparación de la muestra

Para la separación de plasma y eritrocitos, se tomó 10 mL de sangre venosa en un tubo con heparina como anticoagulante, los que fueron centrifugados a 3000 r.p.m. por 15 minutos.

Obtenida la separación del plasma con los elementos figurados. Los eritrocitos se homogenizaron cuidadosamente para evitar hemólisis con una solución buffer fosfato salina (NaCl 0,15 M, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,001 M, Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,01M) a pH 7.4 y finalmente se lavaron y centrifugaron 3 veces a 3000 r.p.m por 15 minutos cada vez.

Con estos lavados se obtuvieron los eritrocitos para las pruebas de determinación de LDLox y Carbonilos proteicos.

#### 9.4.2 Determinación de lipoproteínas de baja densidad oxidadas (LDLox)

Para la medición de LDLox se utilizó un kit de Mercodia denominado “Mercodia oxidized LDL ELISA”. Esta prueba consiste en un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA).

En primera instancia, se prepararon los calibradores, controles, solución de enzima conjugada, buffer de lavado, buffer de enzima conjugada y buffer de

ensayo, luego se preparó la solución buffer de muestra y se diluyeron las muestras. A continuación, en la placa recubierta del kit, se asignó un pocillo por triplicado a cada muestra diluida, calibrador y control. Luego se añadió 25µL de cada uno a los pocillos correspondientes y 100µL de buffer de ensayo. Se incubó en un agitador de placas (700rpm) durante 2 horas a temperatura ambiente, para luego realizar una fase de lavado. Posterior a esto, se añadió 100µL de la solución enzima conjugada a cada pocillo y se dejó incubar durante 1 hora en el agitador de placas (700rpm) a temperatura ambiente. Nuevamente se realizó una fase de lavado. Luego, a cada pocillo se añadió 200µL de sustrato tetrametilbencidina (TMB). Luego se dejó incubar en el banco durante 15 minutos a temperatura ambiente, sin agitar. Por último, se añadió 50µL de solución de detención a cada pocillo y se agitó durante 5 segundos en el agitador de placas (700rpm) para asegurar el mezclado y se midió la densidad óptica a 450nm. Los resultados obtenidos se expresan en unidades enzimáticas por litro (U/L).

#### 9.4.3 Determinación de carbonilos proteicos plasmáticos

El análisis se basa en el protocolo de Palamanda y Kehrer (1992). Este método se sustenta en la reacción de los grupos carbonilos, generados por la oxidación de proteínas, con la 2-4-dinitrofenilhidrazina.

Para la medición de carbonilos, se utilizó ácido clorhídrico (HCL) 2M, 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNPH) 10mM en HCL 2M, urea 6M, buffer (fosfato/potasio), ácido tricloroacético (TCA) 20% ajustado a pH2,3 y solución etanol : acetato (1 : 1).

El procedimiento para la medición de carbonilos comenzó con el mezclado de 100µL de la muestra de eritrocitos con 300µL TCA 20%. La mezcla anterior se almacenó en hielo durante 5 minutos. Se centrifugó a 11.000g durante 3 minutos y finalmente se eliminó el sobrenadante. Luego, por cada sujeto se utilizó 1 tubo eppendorf donde se mezcló la muestra de eritrocitos más TCA 20%, con 500µL de DNPH en HCL que se utilizó como control, además se utilizaron 3 tubos eppendorf, donde se mezcló muestras más TCA 20% con 500µL de HCL para ser investigadas. Se almacenó en oscuridad durante una hora, a temperatura ambiente, agitando periódicamente (cada 15 minutos). A continuación, a cada tubo, se agregó 500µL de TCA 20% y se agitó. Se almacenó en hielo durante 5 minutos, para luego ser centrifugado a 11.000g durante 3 minutos, y se eliminó el sobrenadante. Por último, se lavó 3 veces cada muestra y control, se secó cada precipitado con nitrógeno gaseoso, luego estos se resuspendieron en 600µL de urea 6M, durante 15 minutos a 37°C y luego se agitaron. Cada muestra y control se midió entre 360 y 390nm, se utilizó un blanco de urea en TCA 20%. Los resultados obtenidos se expresan en concentración micromolar de carbonilos por miligramos de proteínas (µM/mg).

#### 9.4.4 Determinación de proteínas totales

Se preparó 250mL de reactivo de cobre alcalino (RCA) con las siguientes sales;  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 0,94 M;  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  a 3,5 mM;  $\text{CuSO}_4$  a 2 mM y NaOH a 0,5M, disueltas en agua destilada. Luego, se preparó el reactivo Folin-Ciocalteu en una proporción 1 folin : 20 agua destilada. En un tubo eppendorf se mezclaron 990 $\mu\text{L}$  de buffer de lavado ( $\text{NaCl}$  0,15 M,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,01 M,  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$  0,01M) con 10 $\mu\text{L}$  de plasma (revisar separación de plasma y eritrocitos), por paciente, a la que llamamos “muestra proteínas totales”.

Para iniciar la lectura de las muestras debió realizarse previamente la lectura del blanco con 4mL de folin, 1mL de agua destilada, y 1 mL de RCA. Posteriormente, en tubos de ensayos independientes por paciente, se agregó 1 mL de la “Muestra Proteínas Totales”, 1 mL de RCA y 4 mL de la mezcla folin, y se llevó a baño termostático a 55°C por 5 minutos y posteriormente se leyó a 650 nm.

#### 9.4.5 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el software STADISTICA, versión 7, año 2002. Se determinó la homogeneidad de la muestra a través de la comparación de ambos grupos de la muestra (G0 y G1), con chi cuadrado,

previo al periodo de intervención, y se utilizó el análisis Kolmogorov- Smimov para dos muestras independientes considerando un intervalo de confianza de 95%.

Para analizar el comportamiento de las variables de un mismo grupo en estado inicial y final del estudio, se utilizó el Test de Wilcoxon para dos muestras independientes, considerando un intervalo de confianza del 95%.

Los datos obtenidos se normalizaron y los resultados fueron expresados por medio de gráficos y tablas detalladas en el apartado correspondiente.

## **9.5 INTERVENCIÓN**

El grupo tratado (G1) realizó un programa de entrenamiento supervisado 3 veces por semana, durante 12 semanas. Todas las sesiones de ejercicio fueron cuidadosamente supervisadas por un kinesiólogo o un especialista en el área. Los usuarios debieron de completar, como mínimo, el 70% del programa de entrenamiento.

La intervención tuvo una duración total de 14 semanas, realizando ejercicio 3 veces por semana sumando un total de 150 minutos semanales (lo mínimo sugerido por la ACSM) 11 a una intensidad moderada. Durante las primeras 2 semanas se realizó un período de educación y aprendizaje de la pauta de ejercicios, así como de la medición de la frecuencia cardíaca por parte de los

participantes. Este periodo de aprendizaje tiene por objetivo lograr una correcta ejecución de los ejercicios con el fin de evitar lesiones. Además, se considera como un tiempo adecuado para que los participantes puedan adaptarse a los implementos a usar y obtengan la confianza necesaria para ejecutar de manera correcta las rutinas de ejercicios. En este período se realizaron las mismas rutinas de ejercicios que se utilizarían durante la intervención, pero sólo se ejecutó una serie de cada circuito, de manera más lenta y pausada para que cada uno de los participantes pudiera moverse con ritmo y fluidez y, además, pudiesen procesar y aprender los ejercicios de manera correcta.

La sesión de ejercicios comenzó con 10 minutos de calentamiento a una intensidad del 40% de la frecuencia cardíaca máxima (FC máx.). El calentamiento consistió en realizar ejercicios en sedente con balones terapéuticos y en bípedo. Posteriormente, se procedió a realizar ejercicios aeróbicos interválicos y de resistencia muscular, asistidos por el uso de balones terapéuticos, colchonetas, mancuernas y tobilleras. Los ejercicios variaron entre intensidades del 50% y el 80% de la FC máx., los cuales fueron medidos y controlados por medio de un sistema de telemetría. Este sistema consiste en un sensor de frecuencia cardíaca ajustado alrededor del torso del sujeto a la altura del apéndice xifoideo por anterior, el cual detecta las pulsaciones por medio de un electrodo y las entrega a un monitor adaptado con forma de reloj de muñeca, donde se presenta en la pantalla la FC en tiempo real.

Cada sesión finalizó con ejercicios de estiramiento muscular y de relajación durante 10 minutos hasta la estabilización de la frecuencia cardiaca basal. Así, la sesión de ejercicios sumó un total de 50 minutos. Durante la sesión de ejercicio, se realizó la medición de la FC y RPE al inicio, al finalizar el calentamiento, al finalizar cada circuito de entrenamiento y al finalizar la sesión.

Por su parte, el grupo no intervenido (G0) fue instruido a no cambiar sus patrones de alimentación ni sus niveles de actividad física durante el periodo del estudio. Una vez finalizada la intervención, se puso a disposición de los participantes de este grupo un programa de entrenamiento supervisado.

## **10.RESULTADOS**

Se determinó una homogeneidad en la muestra en la evaluación inicial de las variables en estudio entre G0 y G1, por medio del software Statistica, versión 7, año 2002 Los datos obtenidos se procedieron a normalizar, a través del ajuste de dichos datos a una curva normal o Gaussiana, de manera tal que, la lectura de éstos fuera comparable y clarificadora.

## 10.1 DETERMINACIÓN DE MARCADORES DE DAÑO OXIDATIVO

En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos en torno a las concentraciones e LDLox. En ambos grupos se advierte una tendencia al incremento de la concentración de esta molécula, sin embargo, en G1 hay un incremento significativo de alrededor de un 15%, con un  $p=0,00035$ .

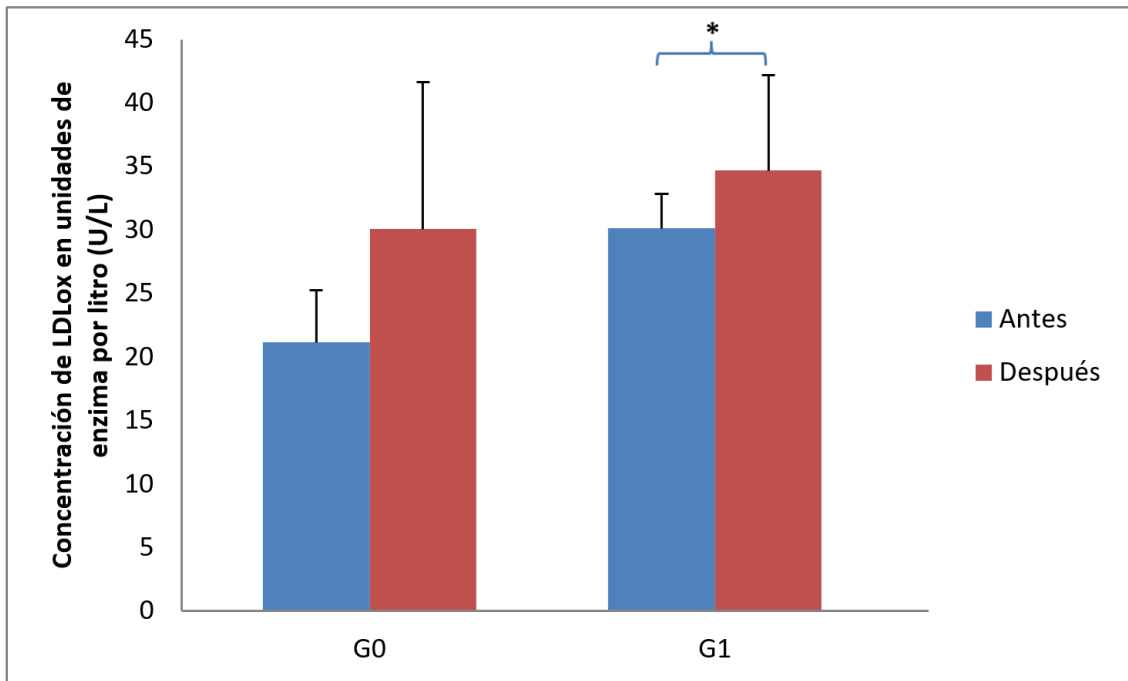


Figura 1: Concentración de lipoproteínas de baja densidad oxidadas en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses ( $n_{G0} = 4$ ;  $n_{G1} = 5$ .  $*p < 0,05$ ).

En la Figura 2 se presentan los resultados obtenidos en relación a la concentración de proteínas carboniladas. Al igual que la concentración de LDLox, se observa una tendencia al incremento de la concentración de esta molécula en G1, de alrededor de un 40%, con un  $p=0,002$ , después de la realización del protocolo.

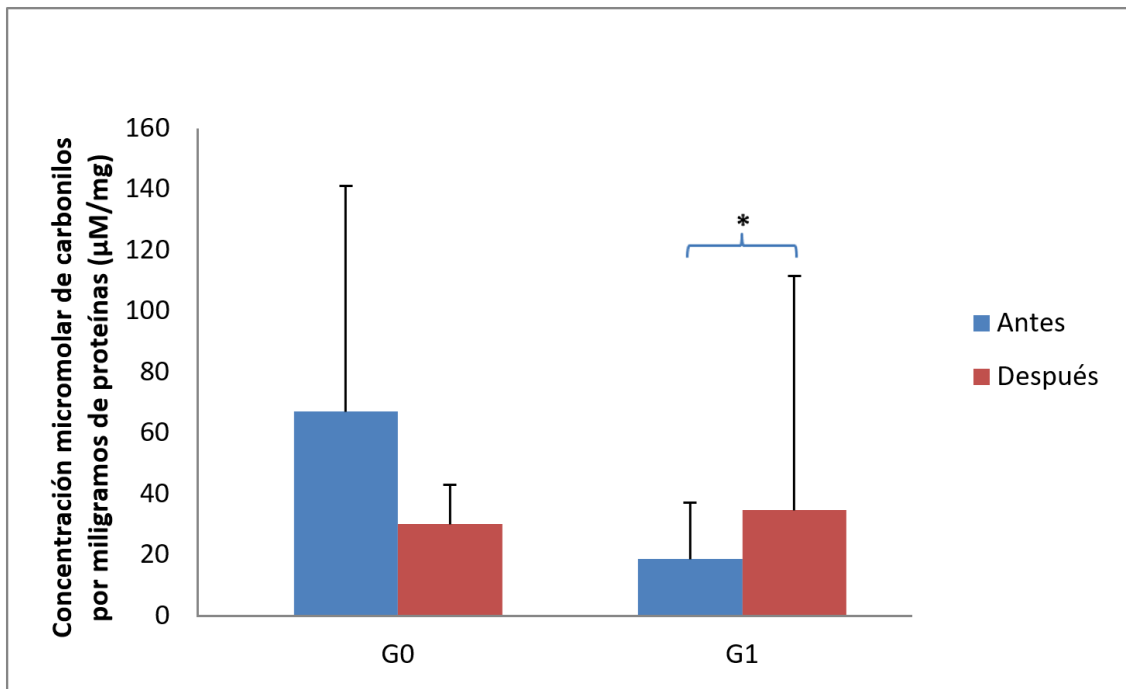


Figura 2: Concentración de proteínas carboniladas en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses ( $n_{G0} = 4$ ;  $n_{G1} = 5$ .  $*p < 0,05$ ).

## 10.2 DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPÍDICO

En la figura 3 se observa que hubo un leve decremento ( $p=0,048$ ) en los niveles de LDL en los sujetos tratados después del protocolo de ejercicios, y en la figura 4 se distingue que ocurrió lo contrario en relación a las concentraciones séricas de HDL, donde se experimentó un leve incremento ( $p=0,046$ ). Ambas diferencias significativas.

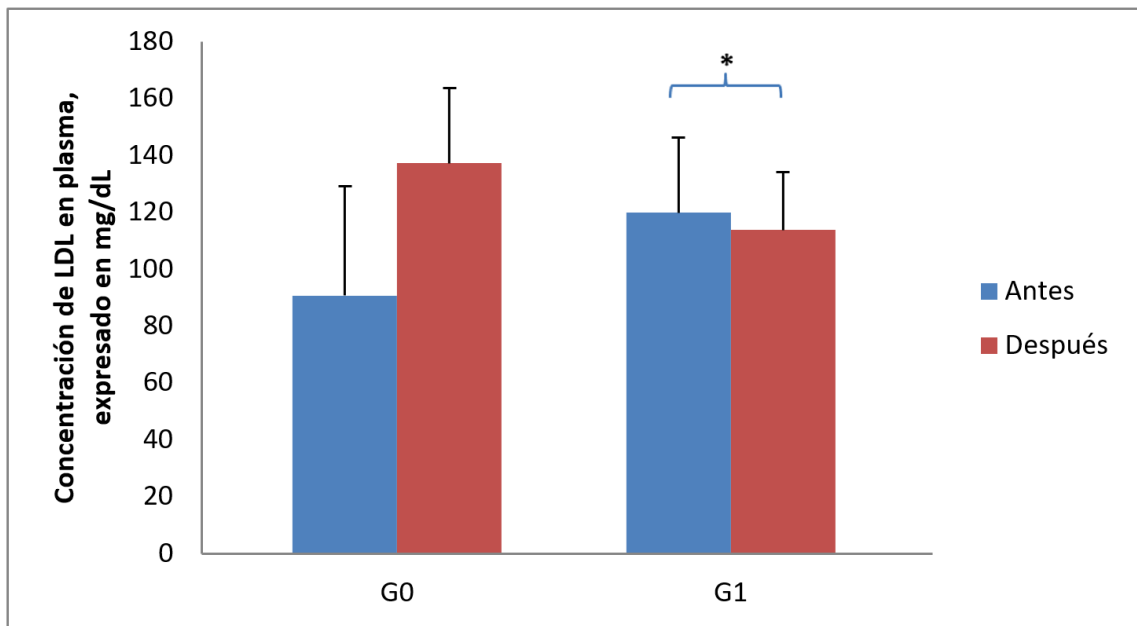


Figura 3: Concentración de LDL en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses ( $n_{G0} = 4$ ;  $n_{G1} = 5$ .  $*p < 0,05$ ).

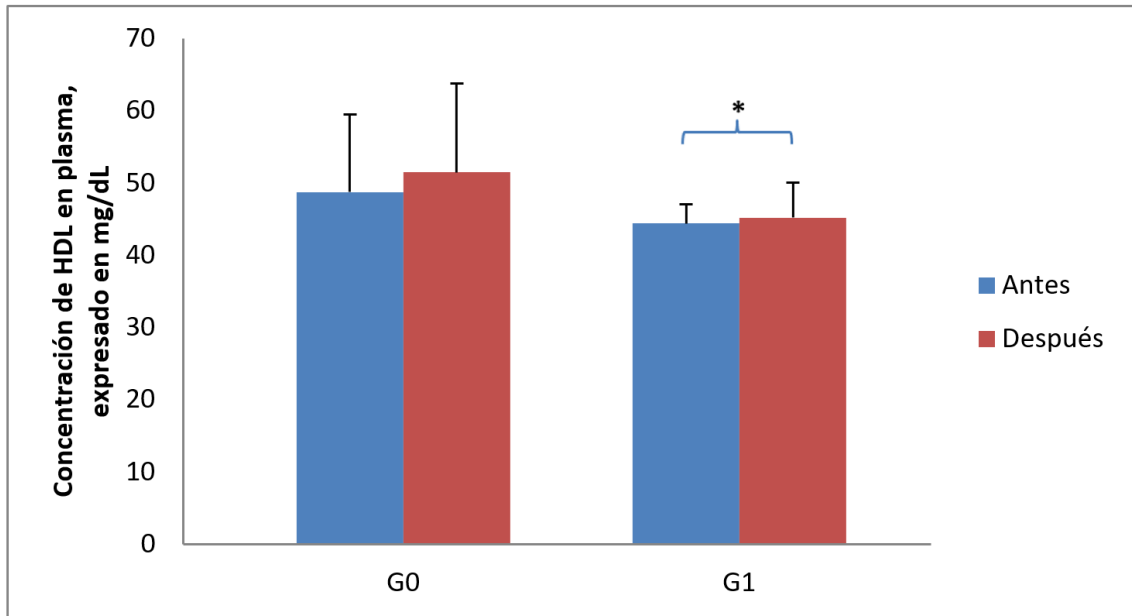


Figura 4: Concentración de HDL en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses (nG0 = 4; nG1 = 5. \*p<0,05).

En relación a las concentraciones de colesterol y triglicéridos en sangre, en el primer parámetro se observó una leve disminución ( $p=0,043$ ) en los sujetos tratados posterior al protocolo de ejercicios (figura 5), y en relación al segundo índice, se manifestó un leve incremento ( $p=0,045$ ) en la concentración de estos (figura 6). Ambas diferencias significativas.

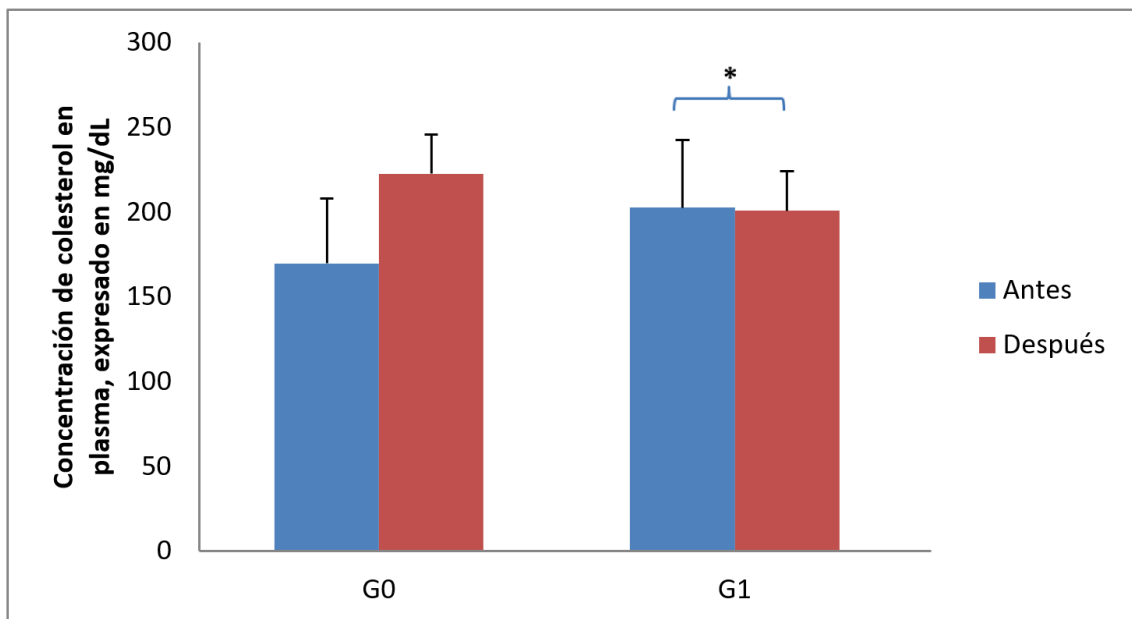


Figura 5: Concentración de colesterol en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses ( $n_{G0} = 4$ ;  $n_{G1} = 5$ .  $*p < 0,05$ ).

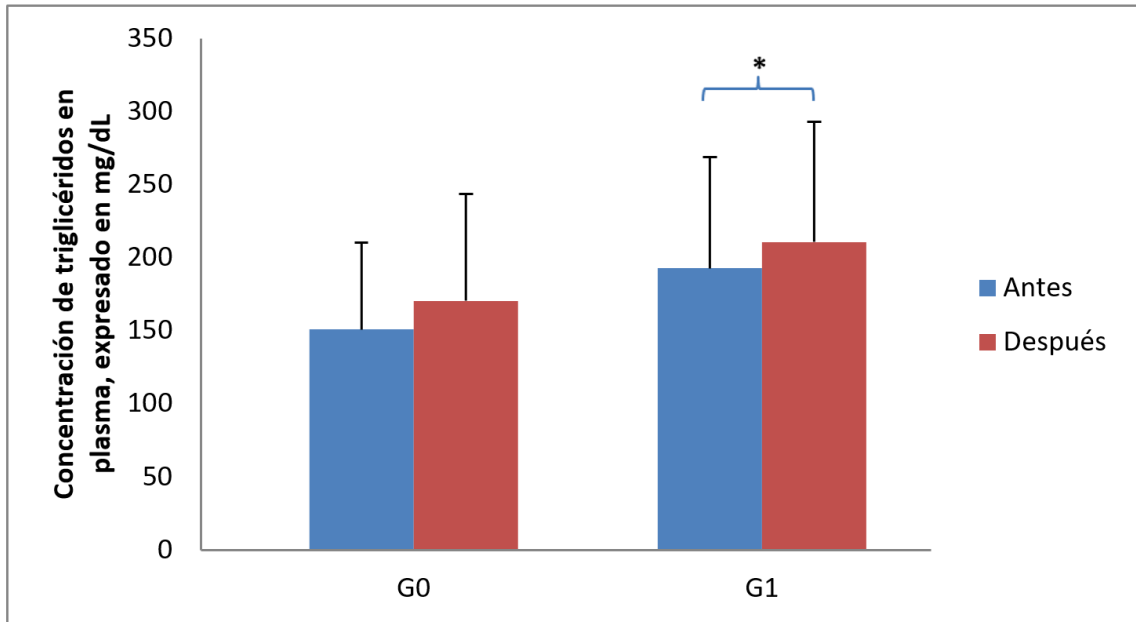


Figura 6: Concentración de triglicéridos en plasma sanguíneo en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses ( $n_{G0} = 4$ ;  $n_{G1} = 5$ .  $*p < 0,05$ ).

### 10.3 DETERMINACIÓN DE DEFENSAS ANTIOXIDANTES

En la fase previa de investigación se realizó la medición de SOD, CAT y TRAP. Los datos arrojados fueron sometidos nuevamente a análisis estadístico durante la presente investigación. Estos se exhiben a continuación.

La enzima SOD experimento aproximado de un 45% ( $p= 0,000089$ ) en G1 posterior a la realización del protocolo de ejercicios, como se observa en la figura 7.

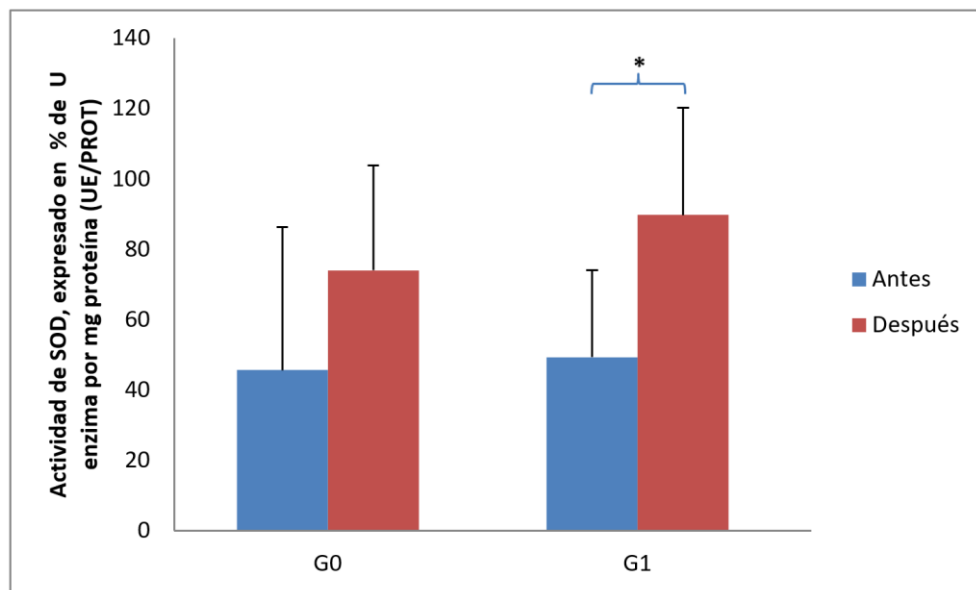


Figura 7: Actividad de SOD (% unidad de enzima / mg de proteína) en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses ( $n_{G0} = 4$ ;  $n_{G1} = 5$ .  $*p < 0,05$ ).

En la figura 8, se observa una tendencia a la disminución en las concentraciones de CAT posterior a la realización del estudio.

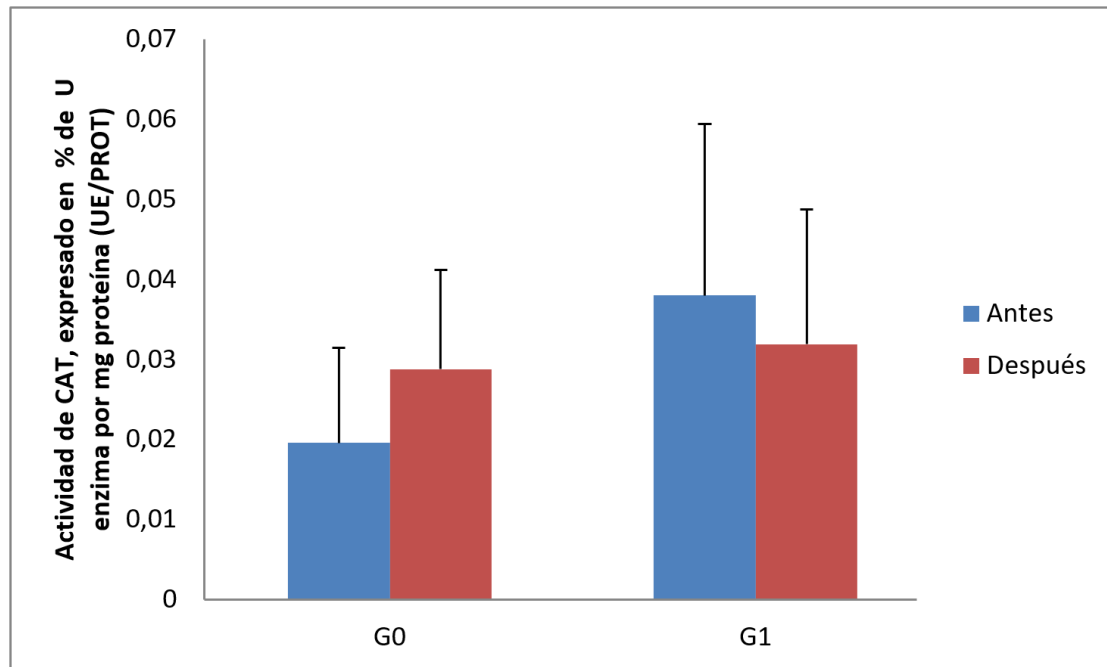


Figura 8: Actividad de CAT (% unidad de enzima / mg de proteína) en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses (nG0 = 4; nG1 = 5. \*p<0,05).

Por último, el promedio de TRAP en G1 presentó un incremento aproximado de un 35% posterior a la realización del protocolo con un  $p= 0,000089$  (figura 9).

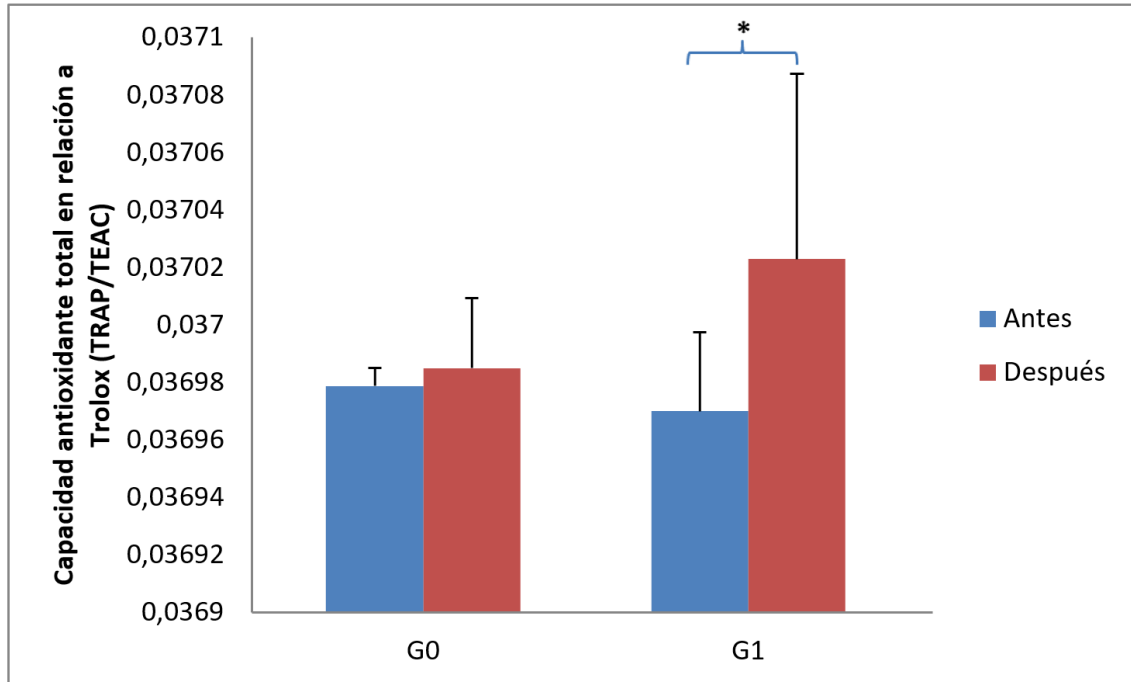


Figura 9: TRAP en relación a Trolox (un antioxidante de referencia) en sujetos no intervenidos (G0) e intervenidos (G1). Cada valor representa la media  $\pm$  SD para las mediciones iniciales y 4 meses ( $n_{G0} = 4$ ;  $n_{G1} = 5$ .  $*p < 0,05$ ).

## 11. DISCUSIÓN

Como se analizó en el apartado de ejercicio físico, son amplios los beneficios generados de la realización periódica de actividad física (Arquer *et al.*, 2010), sin embargo, también son conocidos sus efectos pro-oxidantes (Powers *et al.*, 2008). De acuerdo a los resultados del presente estudio, luego de la realización del protocolo de ejercicios aeróbicos, interválicos y de resistencia muscular durante 12 semanas, se experimentó un incremento en los niveles de LDL<sub>ox</sub> y carbonilos proteicos.

Los ácidos grasos insaturados, tales como los presentes en las membranas celulares, son un blanco común para los RL. Las reacciones normalmente se producen como una reacción en cadena, donde un radical libre atraparé un hidrógeno de la molécula, para formar agua. Esto deja un electrón desapareado en el ácido graso que es entonces capaz de captar el oxígeno, formando un radical peroxilo. Los peróxidos de lípidos son inestables y se descomponen para formar una serie compleja de compuestos, que incluyen compuestos reactivos de carbonilo, tales como malondialdehído (Held, 2010). La oxidación de LDL es un proceso intrincado en el que tanto la proteína y los lípidos se someten a cambios oxidativos y forman productos complejos. Los cambios no enzimáticos oxidativos en aminoácidos, así como la proteólisis y los enlaces cruzados de apo B-100, se producen como resultado de una extensa alteración

en la composición y estructura de la molécula o alguno de sus componentes (Parthasarathy *et al.*, 2010). Un desbalance en el equilibrio Redox, como el acaecido durante el ejercicio crónico, puede llevar a la formación de LDLox. Se ha observado que el ejercicio físico induce oxidación de las LDL en humanos, cuando los individuos son sometidos a programas de ejercicio con un alto volumen de entrenamiento y de larga duración (Knez *et al.*, 2006; Pincemail *et al.*, 2000). En sujetos sedentarios, la oxidación de LDL ocurre por fenómenos de autooxidación, lo que produce un incremento en su potencial aterogénico y citotóxico (Hessler *et al.*, 1983; Parthasarathy *et al.*, 1998). Esto lleva a plantear la posibilidad de que el incremento en los niveles de LDLox ocurridos en los sujetos de estudio de la presente investigación, sea derivado de una serie de eventos procedentes del contexto investigativo. Por una parte, se observó un incremento en los niveles de TG presentes en plasma al momento de realizar la toma de muestras al final de la investigación, como se observa en el apartado de resultados. Estos TG son moléculas conformacionales de las lipoproteínas, y al incrementar su biodisponibilidad, es mayor el índice de producción de lipoproteínas, incluida la LDL (Guyton & Hall, Tratado de fisiología médica 12<sup>a</sup> edición, 2011). Es posible que este incremento en la concentración de TG haya ocurrido debido a cambios en la dieta durante el desarrollo de la investigación, lo cual no es objetivable y queda en el marco de lo supuesto. En estudios previos se ha observado una correlación lineal entre niveles de TG y LDLox, tanto en sujetos sanos (Carantoni *et al.*, 1998), como en diabéticos tipo I

(Mamdouh *et al.*, 2005) y tipo II (Jain *et al.*, 2000), en consecuencia, se puede inferir que el incremento en la biodisponibilidad de LDL, sumado al desarrollo de una rutina de ejercicios de manera crónica, pudo generar un aumento en la formación de LDLox.

Los carbonilos de proteínas plasmáticas son uno de los biomarcadores más analizados, dada su estabilidad y abundancia (Jung *et al.*, 2009). Se encuentran presentes de forma natural en todas las proteínas, en forma de ácidos carboxílicos, formando la estructura básica de estas y determinando su funcionalidad. En procesos metabólicos normales puede existir modificaciones post-traduccionales que llevan a la formación de carbonilos anexos (Guidi *et al.*, 2011), sin embargo, la adición excesiva de grupos carbonilos por oxidación, llevan a una alteración en su funcionalidad y estructura, incluso produciendo la exposición del núcleo proteico, lo que conlleva una consecuente degradación proteolítica por parte de los proteosomas 20S y 11S (Jung *et al.*, 2014). Al igual que la oxidación de LDL, el ejercicio es un agente pro-oxidante que lleva a la formación de carbonilos proteicos plasmáticos y el incremento en su formación es considerado como un reflejo del estrés oxidativo sistémico (Bloomer *et al.*, 2007). Este daño a proteínas plasmáticas pudiese ocurrir durante el periodo de horas a días posterior al desempeño del ejercicio debido a micro lesiones de las fibras musculares y su consecuente inflamación (Bloomer *et al.*, 2005), que como se analizó en el apartado de ejercicio físico, conlleva un incremento del

estado pro-oxidativo a raíz de la sobreproducción de ERO por la mitocondria, retículo sarcoplasmático, túbulos transversos, membrana plasmática, NOS y células fagocíticas de la inflamación (Powers *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 2009).

En torno al daño oxidativo producto del ejercicio, la evidencia se condice con los resultados obtenidos, sin embargo, a raíz de lo anterior surge la interrogante de cuál sería la dosis y tiempo adecuado de ejercicio para generar la adaptación e inducir la producción de defensas antioxidantes. En el presente estudio, la aplicación del protocolo de ejercicios tuvo una extensión de 12 semanas y, como se describe en el apartado de resultados, se observó un incremento significativo de la actividad de SOD y la capacidad antioxidante total (TRAP). El aumento de estos parámetros podría haber ocurrido debido a que la práctica regular de actividad física puede mejorar la TRAP dado al incremento en la síntesis de antioxidantes celulares enzimáticos (SOD, CAT, GPX) y no enzimáticos (ácido úrico, albúmina, ceruloplasmina, metalotioneínas) en los músculos esqueléticos, el hígado, el corazón, el cerebro y otros órganos (Lira & Bucalen, 2011). Sin embargo, en la presente investigación, la actividad de CAT no presentó un incremento. Una posible razón podría ser debido a la actividad de GPx, que podría estar mediando la dismutación de  $H_2O_2$  a  $H_2O$ , disminuyendo, por ende, la expresión y actividad de CAT, o también debido a un fenómeno de depletamiento secundario al uso de esta molécula como

antioxidante, y que, con un protocolo más prolongado, se manifestase un incremento en su expresión (Powers *et al.*, 2008; Kapoor *et al.*, 2015).

Salminen & Vihko en 1983, ya mencionaban que cada sesión de ejercicios generaba una acumulación de estrés oxidativo no patológico, que llevaría a una adaptación antioxidante a raíz del ejercicio crónico, produciendo una regulación positiva de SOD y GPx, suficiente para reducir el daño oxidativo del ejercicio extenuante. Otros estudios posteriores realizados en ratas sugieren que el ejercicio crónico de al menos 10 semanas de entrenamiento de resistencia, favorece la regulación positiva del sistema AO, incrementado significativamente el contenido de AO en músculo, hígado y cerebro (Lew & Quintanilha, 1990; Venditti & Di Meo, 1996; Somani & Husain, 2000). Sin embargo, en seres humanos se ha evidenciado que el tiempo requerido para generar una sobre-regulación de las defensas antioxidantes pareciese ser mayor a 24 semanas en sujetos obesos y sobrepeso (Vincent *et al.*, 2006) e incluso 40 semanas de entrenamiento en sujetos sedentarios (Vasankari *et al.*, 1998). Estudios en sujetos con síndrome metabólico han demostrado que protocolos de ejercicio mayores a 24 semanas, en compañía de una modificación dietaria, pueden incrementar la defensa antioxidante de enzimas como CAT, SOD y GPx (Ennezat *et al.*, 2001; Linke *et al.*, 2005; Lazarevic *et al.*, 2006; Scott *et al.*, 2007). Un estudio en jóvenes entre 15 y 16 años, determinó que se puede lograr un incremento de las defensas antioxidantes en tan solo 12 semanas, sin

embargo, el protocolo consistió en 2 horas de entrenamiento aeróbico, seis días a la semana (Morikawa *et al.*, 2004). Por último, un programa de entrenamiento de ejercicio físico aeróbico de 6 semanas, demostró que, si bien existió un incremento de la capacidad oxidativa muscular, no hubo un incremento de la capacidad enzimática antioxidante (Tonkonogi *et al.*, 2006).

En el contexto de la presente investigación, se observó un incremento en la capacidad antioxidante total de los individuos, con un protocolo de ejercicios de 12 semanas, no obstante, los marcadores de daño incrementaron para LDLox y carbonilos proteicos. Resultados similares fueron obtenidos en investigaciones previas (Leaf *et al.*, 1999; Edwards *et al.*, 2004). A raíz de lo analizado con anterioridad, es posible que el lapso de tiempo del protocolo no fue el suficiente para hacer frente al daño oxidativo producto del ejercicio y como es mencionado en la bibliografía, los sujetos con compromiso metabólico van a presentar una serie de condiciones que potenciarían el daño oxidativo, al menos en una etapa inicial, como ocurre frente a la realización de ejercicio en sujetos con desacondicionamiento muscular en sujetos sedentarios, donde la realización de actividad física lleva a la depleción de los antioxidantes, que además se encuentran disminuidos, truncando la adaptación y retardando la sobre-regulación de enzimas antioxidantes (Helvoort *et al.*, 2006; Confalonieri *et al.*, 2006; Powers *et al.*, 2012). Es por ello, que el incremento en la expresión de defensas enzimática aparece como respuesta al daño inicial, probablemente la

primera línea de defensa adaptativa, y tal como se observa en estudios con protocolos más prolongados, al cabo de 24 a 40 semanas esta respuesta adaptativa comenzaría a manifestarse sistémicamente con una disminución en los índices de daño a macromoléculas (Vasankari *et al.*, 1998; Vincent *et al.*, 2006).

De acuerdo a la bibliografía, las posibles adaptaciones producidas por el ejercicio crónico derivarían de una serie de cambios o modificaciones en consecuencia del incremento de ERO posterior al desarrollo del ejercicio en una fase aguda, ya sea por las micro lesiones a nivel muscular que conlleva fenómenos pro-inflamatorios (Powers *et al.*, 2008), o por fenómenos de isquemia-reperusión mediados por la enzima xantina oxidasa, propios del mecanismo de contracción muscular (Sachdev & Davies, 2008), etc., los cuales generarían la activación de I $\kappa$ B kinasa (IKK), secundaria a la activación de MAPK. IKK sería la encargada de fosforilar la subunidad inhibitoria del factor de transcripción NF- $\kappa$ B y, en consecuencia, liberarlo para que este desempeñe su acción a nivel del núcleo. Una vez allí, NF- $\kappa$ B promovería la transcripción de una serie de genes de enzimas antioxidantes, como MnSOD y ligasa glutamato-cisteína, enzima importante en la generación de glutatión, efectos que resultarían en una mejora de la defensa antioxidante (Radak *et al.*, 2008; Fisher-Wellman *et al.*, 2009).

## **12. CONCLUSIÓN**

El desarrollo de un protocolo de 12 semanas de ejercicios aeróbicos, interválicos y de resistencia muscular en sujetos con síndrome metabólico, pertenecientes al programa de salud cardiovascular de Valparaíso, generó un incremento en el daño oxidativo a LDL y proteínas plasmáticas, manifestado en el incremento en la formación de LDLox y carbonilos proteicos. Sin embargo, este fenómeno se acompañó con una sobre-regulación enzimática de defensas antioxidantes, manifestándose en el acrecentamiento de la actividad de SOD y capacidad antioxidante total. Es misión de futuras investigaciones determinar las manifestaciones de estos productos de daño a macromoléculas y su consecuente expresión antioxidante en protocolos con duraciones mayores.

### 13. REFERENCIAS

- Afzalpour, M. E., Gharakhanlou, R., Gaeini, A. A., Mohebbi, H., Hedayati, M., & Khazaei, M. (2008). The effects of aerobic exercises on the serum oxidized LDL and total antioxidant capacity in non-active men. *CVD Prevention and Control*, 3(2), 77–82.
- Aleman, M. (2012). Regulation of adipose tissue energy availability through blood flow control in the metabolic syndrome. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(10), 2108–2119.
- Allen, D. G., Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiological Reviews*, 88(1), 287–332.
- Alvarez, G. E., Beske, S. D., Ballard, T. P., & Davy, K. P. (2002). Sympathetic neural activation in visceral obesity. *Circulation*, 106(20), 2533–2536.
- Anderson, H. D. I., Rahmutula, D., & Gardner, D. G. (2004). Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  Inhibits Endothelial Nitric-oxide Synthase Gene Promoter Activity in Bovine Aortic Endothelial Cells. *Journal of Biological Chemistry*, 279(2), 963–969.
- Ando, K., & Fujita, T. (2009). Metabolic syndrome and oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(3), 213–218.
- Andreyev, A. Y., Kushnareva, Y. E., Murphy, A. N., Starkov, A. A., Diego, S., Jolla, L., & Jolla, L. (2015). HHS Public Access, 80(5), 517–531.
- Antoniades, C., Tousoulis, D., Vasiliadou, C., Pitsavos, C., Chrysochoou, C., Panagiotakos, D., ... Stefanadis, C. (2005). Genetic polymorphism on endothelial nitric oxide synthase affects endothelial activation and inflammatory response during the acute phase of myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*, 46(6), 1101–1109.
- Arquer, A., Elosua, R., & Marrugat, J. (2010). Actividad física y estrés oxidativo. *Apunts Medicina de l'Esport*, 45(165), 31–40.
- Avogaro, A., & De Kreutzenberg, S. V. (2005). Mechanisms of endothelial dysfunction in obesity. *Clinica Chimica Acta*, 360(1–2), 9–26.

- Baumbach, G. L., Sigmund, C. D., & Faraci, F. M. (2004). Structure of cerebral arterioles in mice deficient in expression of the gene for endothelial nitric oxide synthase. *Circulation Research*, 95(8), 822–829.
- Beauchamp, A., Tonkin, A., Peeters, A., Wolfe, R., Turrell, G., Harriss, L., ... Jenkins, A. J. (2010). Associations among smoking status, lifestyle and lipoprotein subclasses. *Journal of Clinical Lipidology*, 4(6), 522–530.
- Berlett, B. S., & Stadtman, E. R. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 272(33), 20313–20316.
- Berndt, C., Lillig, C. H., & Holmgren, A. (2007). Thiol-based mechanisms of the thioredoxin and glutaredoxin systems: implications for diseases in the cardiovascular system. *American Journal Of Physiology-Heart And Circulatory Physiology*, 292(3), H1227–H1236.
- Bhattacharya, S., Ahmed, K. M., & Chakraborty, S. (2011). Free Radicals and Cardiovascular Diseases: An Update. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(1), 17–22.
- Billat, L. V. (2001). Interval training for performance a scientific and empirical practice.pdf. *Sports Medicine*.
- Blair, S. N., Cheng, Y., & Holder, J. S. (2001). Is physical activity or physical fitness more important in defining health benefits? *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 33(6 Suppl), S379-99–20.
- Bloomer, R. J., Fry, A. C., Falvo, M. J., & Moore, C. A. (2007). Protein carbonyls are acutely elevated following single set anaerobic exercise in resistance trained men. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 10(6), 411–417.
- Bloomer, R., Goldfarb, A., Wideman, L., McKenzie, M., & Consitt, L. (2005). Effects of Acute Aerobic and Anaerobic Exercise on Blood Markers of Oxidative Stress. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 19(2), 276–85.
- Bonora, E., Kiechl, S., Willeit, J., Oberhollenzer, F., Egger, G., Bonadonna, R. C., & Muggeo, M. (2003). Carotid Atherosclerosis and Coronary Heart Disease in the Metabolic Syndrome: Prospective data from the Bruneck Study. *Diabetes Care*, 26(4), 1251–1257.
- Bouchi, R., Asakawa, M., Ohara, N., Nakano, Y., Takeuchi, T., Murakami, M., ... Ogawa, Y. (2016). Indirect measure of visceral adiposity “A Body Shape

- Index" (ABSI) is associated with arterial stiffness in patients with type 2 diabetes. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 4(1), e000188.
- Boudou, P., Ibrahim, F., Cormier, C., Sarfati, E., & Souberbielle, J. C. (2006). Unexpected serum parathyroid hormone profiles in some patients with primary hyperparathyroidism. *Clinical Chemistry*, 52(4), 757–760.
- Brand, M. D. (2011). NIH Public Access. *Experimental Gerontology*, 45(7–8), 466–472.
- Brown, D., Wertsch, J. J., Harris, G. F., Klein, J., & Janisse, D. (2004). Effect of rocker soles on plantar pressures<sup>11</sup>No commercial party having a direct financial interest in the results of the research supporting this article has or will confer a benefit upon the author(s) or upon any organization with which the author(s) is. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 85(1), 81–86.
- Brownlee, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes*, 54(6), 1615–1625.
- Candia, C., Huguez, K. D., Alberto, R., Pacheco, R., Denisse, M., Villa, G., ... Soto, L. (2011). Diabetes Mellitus Tipo 2 De Una Unidad Médica De Primer Nivel De Atención De Hermosillo, Sonora Elevation of Carbonylated Proteins in Serum of Type 2 Diabetes Mellitus Patients Treated As Outpatients in a Primary Medical Care Unit At Hermosillo, Sonora, 41–48.
- Canty Jr., T. G., Boyle Jr., E. M., Farr, A., Morgan, E. N., Verrier, E. D., & Pohlman, T. H. (1999). Oxidative stress induces NF-kappaB nuclear translocation without degradation of IkappaBa. *Circulation*, 100(19), 361–364.
- Carantoni, M., Abbasi, F., Warmerdam, F., Klebanov, M., Wang, P.-W., Chen, Y.-D. I., ... Reaven, G. M. (1998). Relationship Between Insulin Resistance and Partially Oxidized LDL Particles in Healthy, Nondiabetic Volunteers. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 18(5), 762–767.
- Cardona, F., & Tinahones, F. J. (2006). El eslabón perdido del síndrome metabólico: Hiperlipidemia posprandial y estrés oxidativo. *Endocrinología Y Nutrición*, 53(5), 345–352.
- Carlyle, M., Jones, O. B., Kuo, J. J., & Hall, J. E. (2002). Chronic cardiovascular and renal actions of leptin: Role of adrenergic activity. *Hypertension*, 39(2 II), 496–501.

- Carr, A., & Frej, B. (1999). Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 13(9), 1007–24.
- Cascales Angosto, M. (2005). Estallido respiratorio de los fagocitos. *Anales de La Real Academia Nacional de Farmacia*, 71(2), 365–386.
- Casillas, J. M., Gremeaux, V., Damak, S., Feki, A., & Perennou, D. (2007). Exercise training for patients with cardiovascular disease. *Annales de Readaptation et de Medecine Physique: Revue Scientifique de La Societe Francaise de Reeducation Fonctionnelle de Readaptation et de Medecine Physique*, 50(6), 386-402-418.
- Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(2), 192–208.
- Cohen, P., & Spiegelman, B. M. (2016). Cell biology of fat storage. *Molecular Biology of the Cell*, 27(16), 2523–7.
- Confalonieri, M., & Chetta, A. (2006). Oxidative Stress during Exercise: Further Proof that Being Lean Is Detrimental for Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients. *Respiration*, 73(6), 737–738.
- Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, 17(10), 1195–1214.
- Crepaldi, G., & Maggi, S. (2006). El síndrome metabólico: contexto histórico. *Diabetes' Voice*, 51(Special), 8–10.
- Criswell, D., Powers, S., Dodd, S., Lawler, J., Edwards, W., Renshler, K., & Grinton, S. (1993). High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 25(10), 1135–40.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., & Colombo, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 329(1–2), 23–38.
- Darr, D., & Fridovich, I. (1994). Free Radicals in Cutaneous Biology. *Journal of Investigative Dermatology*, 102(5), 671–675.

- Dinh, Q. N., Drummond, G. R., Sobey, C. G., & Chrissobolis, S. (2014). Roles of inflammation, oxidative stress, and vascular dysfunction in hypertension. *BioMed Research International*, 2014.
- Dröge, W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol Rev*, 82(1), 47–95.
- Dunham-Snary, K. J., & Ballinger, S. W. (2013). Mitochondrial genetics and obesity: Evolutionary adaptation and contemporary disease susceptibility. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 1229–1237.
- Edith- López, M., Sosa, M. A., & Labrousse, N. P. M. (2007). Síndrome metabólico. *Revista de Posgrado de La Vía Cátedra de Medicina*, 174(Dm), 12–15.
- Edwards, D. G., Schofield, R. S., Lennon, S. L., Pierce, G. L., Nichols, W. W., & Braith, R. W. (2004). Effect of exercise training on endothelial function in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol*, 93(5), 617–620.
- Ennezat, P. V., Malendowicz, S. L., Testa, M., Colombo, P. C., Cohen-Solal, A., Evans, T., & LeJemtel, T. H. (2001). Physical training in patients with chronic heart failure enhances the expression of genes encoding antioxidative enzymes. *Journal of the American College of Cardiology*, 38(1), 194–198.
- Ensign, W. Y., McNamara, D. J., & Fernandez, M. L. (2002). Exercise improves plasma lipid profiles and modifies lipoprotein composition in guinea pigs. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(12), 747–753.
- Fisher-Wellman, K., Bell, H. K., & Bloomer, R. J. (2009). Oxidative stress and antioxidant defense mechanisms linked to exercise during cardiopulmonary and metabolic disorders. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(1), 43–51.
- Flamant, M., Placier, S., Dubroca, C., Esposito, B., Lopes, I., Chatziantoniou, C., ... Lehoux, S. (2007). Role of matrix metalloproteinases in early hypertensive vascular remodeling. *Hypertension*, 50(1), 212–218.
- Freeman, L. R., Zhang, L., Nair, A., Dasuri, K., Francis, J., Fernandez-Kim, S. O., ... Keller, J. N. (2013). Obesity increases cerebrocortical reactive oxygen species and impairs brainfunction. *Free Radical Biology and Medicine*, 56, 226–233.

- Fulton, D., Gratton, J., McCabe, T., Fontana, J., Fujio, Y., Walsh, K., ... Sessa, W. (1999). Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature*, 399(6736), 597–601.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shumabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Makajima, Y., ... Shimomura, I. (2004). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, 114(12), 1752–1761.
- G, A. M. (2005). El síndrome metabólico y riesgo cardiovascular. *Boletín De La Escuela De Medicina*, 30(1), 25–30.
- Golbidi, S., Mesdaghinia, A., & Laher, I. (2012). Exercise in the metabolic syndrome. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012.
- Gómez, M., Vila, J., Elosua, R., Molina, L., Bruguera, J., Sala, J., ... Fitó, M. (2014). Relationship of lipid oxidation with subclinical atherosclerosis and 10-year coronary events in general population. *Atherosclerosis*, 232(1), 134–140.
- Gómez, R., Monteiro, H., & Cossio-bolaños, M. A. (2010). El ejercicio físico y su prescripción en pacientes con enfermedades crónicas degenerativas, 27(3), 379–386.
- Grattagliano, I., Palmieri, V. O., Portincasa, P., Moschetta, A., & Palasciano, G. (2008). Oxidative stress-induced risk factors associated with the metabolic syndrome: a unifying hypothesis. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 19(8), 491–504.
- Guerrero-Romero, F., & Rodríguez-Morán, M. (2006). Hypomagnesemia, oxidative stress, inflammation, and metabolic syndrome. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 22(6), 471–476.
- Guidi, F., Magherini, F., Gamberi, T., Bini, L., Puglia, M., Marzocchini, R., ... Modesti, A. (2011). Plasma protein carbonylation and physical exercise. *Mol. Biosyst.*, 7(3), 640–650.
- Halliwell, B. (1995). How to characterize an antioxidant: an update. *Biochemical Society Symposium*, 61, 73–101.
- Halliwell, B. (2009). The wanderings of a free radical. *Free Radical Biology and Medicine*, 46(5), 531–542.

- Halverstadt, A., Phares, D. A., Wilund, K. R., Goldberg, A. P., & Hagberg, J. M. (2007). Endurance exercise training raises high-density lipoprotein cholesterol and lowers small low-density lipoprotein and very low-density lipoprotein independent of body fat phenotypes in older men and women. *Metabolism: Clinical and Experimental*, *56*(4), 444–450.
- Halverstadt, A., Phares, D. a, Roth, S., Ferrell, R. E., Goldberg, A. P., & Hagberg, J. M. (2005). Interleukin-6 genotype is associated with high-density lipoprotein cholesterol responses to exercise training. *Biochimica et Biophysica Acta*, *1734*(2), 143–51.
- Hancock, J. T., Desikan, R., & Neill, S. J. (2001). Role of reactive oxygen species in cell signalling pathways. *Biochemical Society Transactions*, *29*(Pt 2), 345–50.
- Hansel, B., Giral, P., Nobecourt, E., Chantepie, S., Bruckert, E., Chapman, M. J., & Kontush, A. (2004). Metabolic syndrome is associated with elevated oxidative stress and dysfunctional dense high-density lipoprotein particles displaying impaired antioxidative activity. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *89*(10), 4963–4971.
- Henriksen, E. J. (2006). Exercise training and the antioxidant ??-lipoic acid in the treatment of insulin resistance and type 2 diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, *40*(1), 3–12. <http://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.04.002>
- Higashi, Y., Noma, K., Yoshizumi, M., & Kihara, Y. (2009). Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ J*, *73*(March), 411–418.
- Höhn, T. J. A., & Grune, T. (2013). The proteasome and the degradation of oxidized proteins: Part II - protein oxidation and proteasomal degradation. *Redox Biology*, *2*(1), 99–104.
- Holloszy, J. O. (2008). Regulation by exercise of skeletal muscle content of mitochondria and GLUT4. *Journal of Physiology and Pharmacology*, *59*(SUPPL. 7), 5–18.
- Hopps, E., Noto, D., Caimi, G., & Aversa, M. R. (2010). A novel component of the metabolic syndrome: The oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, *20*(1), 72–77.

- Huffman, K. M., Hawk, V. H., Henes, S. T., Ocampo, C. I., Orenduff, M. C., Slentz, C. A., ... Bales, C. W. (2012). Exercise effects on lipids in persons with varying dietary patterns - Does diet matter if they exercise? Responses in Studies of a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise I. *American Heart Journal*, 164(1), 117–124.
- Huffman, K. M., Samsa, G. P., Slentz, C. A., Duscha, B. D., Johnson, J. L., Bales, C. W., ... Kraus, W. E. (2006). Response of high-sensitivity C-reactive protein to exercise training in an at-risk population. *American Heart Journal*, 152(4), 793–800.
- Huie, R. E., & Padmaja, S. (1993). The reaction of NO with superoxide. *Free Radical Research Communications*, 18(4), 195–9.
- Hutcheson, R., & Rocic, P. (2012). The metabolic syndrome, oxidative stress, environment, and cardiovascular disease: The great exploration. *Experimental Diabetes Research*, 2012.
- Ignarro, L. J., Balestrieri, M. L., & Napoli, C. (2007). Nutrition, physical activity, and cardiovascular disease: An update. *Cardiovascular Research*, 73(2), 326–340.
- Inoguchi, T., Li, P., Umeda, F., Yu, H. Y., Kakimoto, M., Imamura, M., ... others. (2000). High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD (P) H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes*, 49(11), 1939–1945.
- International Symposium on Atherosclerosis. (2009). High-density lipoproteins and atherosclerosis. *The American Journal of Cardiology*, 90(8A), 62i–70i.
- Jackson, M. J. (2009). Redox regulation of adaptive responses in skeletal muscle to contractile activity. *Free Radical Biology and Medicine*, 47(9), 1267–1275.
- Jain, S. K., McVie, R., Meachum, Z. D., & Smith, T. (2000). Effect of LDL + VLDL oxidizability and hyperglycemia on blood cholesterol, phospholipid and triglyceride levels in Type-I diabetic patients. *Atherosclerosis*, 149(1), 69–73.
- Ji, L. L. (2008). Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 142–152.

- Ji, L. L., Kang, C., & Zhang, Y. (2016). Exercise-induced hormesis and skeletal muscle health. *Free Radical Biology and Medicine*, 98, 113–122.
- Johnson, J. L., Slentz, C. A., Houmard, J. A., Samsa, G. P., Duscha, B. D., Aiken, L. B., ... Kraus, W. E. (2007). Exercise Training Amount and Intensity Effects on Metabolic Syndrome (from Studies of a Targeted Risk Reduction Intervention through Defined Exercise). *American Journal of Cardiology*, 100(12), 1759–1766.
- Jung, T., Höhn, A., Catalgol, B., & Grune, T. (2009). Age-related differences in oxidative protein-damage in young and senescent fibroblasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 483(1), 127–135.
- Kandula, N. R., & Lauderdale, D. S. (2005). Leisure time, non-leisure time, and occupational physical activity in Asian Americans. *Annals of Epidemiology*, 15(4), 257–265.
- Kelley, G. A., & Kelley, K. S. (2007). Effects of aerobic exercise on lipids and lipoproteins in adults with type 2 diabetes: A meta-analysis of randomized-controlled trials. *Public Health*, 121(9), 643–655.
- Khoo, N. K. H., Cantu-Medellin, N., Devlin, J. E., St. Croix, C. M., Watkins, S. C., Fleming, A. M., ... Kelley, E. E. (2012). Obesity-induced tissue free radical generation: An in vivo immuno-spin trapping study. *Free Radical Biology and Medicine*, 52(11–12), 2312–2319.
- Kirkman, H. N., & Gaetani, G. F. (2007). Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends in Biochemical Sciences*, 32(1), 44–50.
- Kłapcińska, B., Kempa, K., Sobczak, A., Sadowska-Krępa, E., Jagsz, S., & Szołtysek, I. (2005). Evaluation of autoantibodies against oxidized LDL (oLAB) and blood antioxidant status in professional soccer players. *International Journal of Sports Medicine*, 26(1), 71–78.
- Knez, W. L., Coombes, J. S., & Jenkins, D. G. (2006). Ultra-endurance exercise and oxidative damage. Implications for cardiovascular health (Knez, W.L., Coombes, J.S. & Jenkins, D.G. -2006-). *Sports Med*, 36(June), 1–13.
- Korkmaz, G. G., Altinoglu, E., Civelek, S., Sozer, V., Erdenen, F., Tabak, O., & Uzun, H. (2013). The association of oxidative stress markers with conventional risk factors in the metabolic syndrome. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 62(6), 828–835.

- Kukkonen-Harjula, K. T., Borg, P. T., Nenonen, A. M., & Fogelholm, M. G. (2005). Effects of a weight maintenance program with or without exercise on the metabolic syndrome: A randomized trial in obese men. *Preventive Medicine, 41*(3–4), 784–790.
- Lakoski, S. G., Cushman, M., Palmas, W., Blumenthal, R., D'Agostino, R. B., & Herrington, D. M. (2005). The relationship between blood pressure and C-reactive protein in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Journal of the American College of Cardiology, 46*(10), 1869–1874.
- Lazarevic, G., Antic, S., Cvetkovic, T., Vlahovic, P., Tasic, I., & Stefanovic, V. (2006). A physical activity programme and its effects on insulin resistance and oxidative defense in obese male patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes & Metabolism, 32*(6), 583–590.
- Leaf, D. A., Kleinman, M. T., Hamilton, M., & Deitrick, R. W. (1999). The exercise-induced oxidative stress paradox: The effects of physical exercise training. *American Journal of the Medical Sciences, 317*(5), 295–300.
- Leaf, D. A. (2003). The effect of physical exercise on reverse cholesterol transport. *Metabolism: Clinical and Experimental, 52*(8), 950–957.
- Lemche, E., Chaban, O. S., & Lemche, A. V. (2016). Neuroendocrine and Epigenetic Mechanisms Subversing Autonomic imbalance and HPA dysfunction in the metabolic syndrome. *Frontiers in Neuroscience, 10*(APR), 1–27.
- Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., ... Stadtman, E. R. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology, 186*(1983), 464–478.
- Lew, H., & Quintanilha, A. (1991). Effects of endurance training and exercise on tissue antioxidative capacity and acetaminophen detoxification. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 16*(1), 59–68.
- Li, H., George, D. M., Jaarsma, R. L., & Mao, X. (2016). Metabolic syndrome and components exacerbate osteoarthritis symptoms of pain, depression and reduced knee function. *Ann Transl Med, 4*(7), 133.
- Linke, A., Adams, V., Schulze, P. C., Erbs, S., Gielen, S., Fiehn, E., ... Hambrecht, R. (2005). Antioxidative effects of exercise training in patients with chronic heart failure: Increase in radical scavenger enzyme activity in skeletal muscle. *Circulation, 111*(14), 1763–1770.

- Lira Ferrari, G. S., & Bucalen Ferrari, C. K. (2011). Exercise modulation of total antioxidant capacity (TAC): towards a molecular signature of healthy aging. *Frontiers in Life Science*, 5(3–4), 81–90.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, L., Randall, R. J., & Randall, R. J. (1951). Article: Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent, 265–275
- Maeda, S., Miyauchi, T., Iemitsu, M., & Sugawara, J. (2004). Endothelin-1 Concentration in Healthy Young Humans, 44(November), 443–446.
- Maeda, S., Tanabe, T., Miyauchi, T., Otsuki, T., Sugawara, J., Iemitsu, M., ... Matsuda, M. (2003). Aerobic exercise training reduces plasma endothelin-1 concentration in older women. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 95(1), 336–341.
- Magkos, F. (2009). Basal very low-density lipoprotein metabolism in response to exercise: Mechanisms of hypotriacylglycerolemia. *Progress in Lipid Research*, 48(3–4), 171–190.
- Mamdouh, M., Salem, S., Hassaneen, H., & Orban, H. (2005). Lipoprotein Oxidizability and Antioxidant Activity In Type 1 Diabetics: Relation to Duration , Glycemic Control and Hyperketo- nemia , and the Effect of Vitamin E Supplementation Abstract : Introduction : Subjects and Methods :, 19(2), 257–264.
- Mantena, S. K., King, A. L., Andringa, K. K., Eccleston, H. B., & Bailey, S. M. (2008). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in the pathogenesis of alcohol- and obesity-induced fatty liver diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(7), 1259–1272.
- Mar, G. E., Rodríguez, E. M., & Jesús, J. De. (2002). La grasa visceral y su importancia en obesidad. *Revista de Endocrinología Y Nutrición*, 10(3), 121–127.
- Mathers, C. D., & Loncar, D. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Medicine*, 3(11), 2011–2030.
- Matsuda, M., & Shimomura, I. (2013). Increased oxidative stress in obesity: Implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obesity Research and Clinical Practice*, 7(5), 1–12.

- McMaster, M. L., Kristinsson, S. Y., Turesson, I., Bjorkholm, M., & Landgren, O. (2010). NIH Public Access. *Clinical Lymphoma*, 9(1), 19–22.
- Mehta, S. K., & Gowder, S. J. T. (2015). Members of Antioxidant Machinery and Their Functions. *Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress*.
- Meissner, A. (2016). Hypertension and the brain: A risk factor for more than heart disease. *Cerebrovascular Diseases*, 42(3–4), 255–262.
- Mendizábal, Y., Llorens, S., & Nava, E. (2013). Hypertension in metabolic syndrome: Vascular pathophysiology. *International Journal of Hypertension*, 2013(Ldl).
- Mercurio, F., & Manning, A. M. (1999). Multiple signals converging on NF- $\kappa$ B. *Current Opinion in Cell Biology*, 11(2), 226–232.
- Moraga, C. (2008). Prescripción de ejercicio en pacientes con hipertensión arterial. *Revista Costaricense de Cardiología*, 10(1), 19–23.
- Morigami, H., Morioka, T., Yamazaki, Y., Imamura, S., Numaguchi, R., Asada, M., ... Inaba, M. (2016). Visceral Adiposity is Preferentially Associated with Vascular Stiffness Rather than Thickness in Men with Type 2 Diabetes. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, advpub(Cvd).
- Morikawa, A., Inamizu, T., Han, Y., & Nagata, M. (2004). Effects of Exercise Training on Superoxide Dismutase Gene Expression in Human Lymphocytes. *International Journal of Sport and Health Science*, 2, 187–194.
- Murdolo, G., Bartolini, D., Tortoioli, C., Piroddi, M., Iuliano, L., & Galli, F. (2013). Lipokines and oxysterols: Novel adipose-derived lipid hormones linking adipose dysfunction and insulin resistance. *Free Radical Biology and Medicine*, 65, 811–820.
- Murphy, M. P., Holmgren, A., Ran Larsson, N.-G., Halliwell, B., Chang, C. J., & Kalyanaraman, B. (2011). Unraveling the Biological Roles of Reactive Oxygen Species. *Cell Metabolism*, 13, 361–366.
- Musi, N., & Guardado-Mendoza, R. (2014). Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Cellular Endocrinology in Health and Disease*, 89(May), 229–237.

- Napoli, C., Williams-Ignarro, S., de Nigris, F., Lerman, L. O., D'Armiento, F. P., Crimi, E., ... Ignarro, L. J. (2006). Physical training and metabolic supplementation reduce spontaneous atherosclerotic plaque rupture and prolong survival in hypercholesterolemic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(27), 10479–10484.
- Natarajan, P., Ray, K. K., & Cannon, C. P. (2010). High-Density Lipoprotein and Coronary Heart Disease. Current and Future Therapies. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(13), 1283–1299.
- Nguyen, K. D., Qiu, Y., Cui, X., Goh, Y. P. S., Mwangi, J., Mukundan, L., ... Francisco, S. (2012). HHS Public Access, 480(7375), 104–108.
- Nourooz-Zadeh, J., Rahimi, A., Tajaddini-Sarmadi, J., Tritschler, H., Rosen, P., Halliwell, B., & Betteridge, D. J. (1997). Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia*, 40(6), 647–653.
- Odalys, M., Sotolongo, G., Ángel, M., & Gámez, A. (2009). Valoración del estrés oxidativo en pacientes con síndrome metabólico Oxidative stress assessment in patients presenting with metabolic syndrome, 38, 40–52.
- Oguma, Y., Sesso, H. D., Paffenbarger, R. S., & Lee, I. M. (2002). Physical activity and all cause mortality in women: a review of the evidence. *British Journal of Sports Medicine*, 36(3), 162–172.
- Onusko, E. (2003). Diagnosing secondary hypertension. *American Family Physician*, 67(1), 67–74.
- O'Rourke, M. (1995). Mechanical Principles in Arterial Disease. *Hypertension*, 26(1), 2–9.
- Otani, H. (2011). Oxidative stress as pathogenesis of cardiovascular risk associated with metabolic syndrome. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(7), 1911–1926.
- Palamanda, J. R., & Kehrer, J. P. (1992). Inhibition of protein carbonyl formation and lipid peroxidation by glutathione in rat liver microsomes. *Arch Biochem Biophys*, 293(1), 103–109.
- Pallotta, J., & Landsberg, L. (1981). Effect of Insulin and Glucose Infusions on Sympathetic Nervous System Activity in Normal Man, 30(March), 219–225.

- Parise, G., Brose, A. N., & Tarnopolsky, M. A. (2005). Resistance exercise training decreases oxidative damage to DNA and increases cytochrome oxidase activity in older adults. *Experimental Gerontology*, *40*(3), 173–180.
- Park, K.a, Gross, M.b, Lee, D.-H.c, Holvoet, P.d, Himes, J.H.a, Shikany, J.M.e, Jacobs Jr., D. R. a. (2009). Oxidative Stress and Insulin Resistance The Coronary Artery Risk Development in Young Adults study, (April), 3–8.
- Parthasarathy, S., Santanam, N., & Auye, N. (1998). Oxidized Low-Density Lipoprotein, a Two-Faced Janus in Coronary Artery Disease? *Biochemical Pharmacology*, *56*(98), 279–284.
- Pedersen, B. K., & Brandt, C. (2010). The role of exercise-induced myokines in muscle homeostasis and the defense against chronic diseases. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *2010*.
- Peeters, A., Barendregt, J. J., Willekens, F., Mackenbach, J. P., Al Mamun, A., Bonneux, L., & NEDCOM, the Netherlands Epidemiology and Demography Compression of Morbidity Research Group. (2003). Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Annals of Internal Medicine*, *138*(1), 24–32.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science: IJBS*, *4*(2), 89–96.
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, *30*(1), 11–26.
- Pikuleva, I. A., & Waterman, M. R. (2013). Cytochromes P450: Roles in diseases. *Journal of Biological Chemistry*, *288*(24), 17091–17098.
- Pittaluga, M., Sgadari, A., Dimauro, I., Tavazzi, B., Parisi, P., & Caporossi, D. (2015). Physical exercise and redox balance in type 2 diabetics: Effects of moderate training on biomarkers of oxidative stress and DNA damage evaluated through comet assay. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2015*.
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*, *88*(4), 1243–1276.

- Powers, S. K., Smuder, A. J., & Judge, A. R. (2012). Oxidative stress and disuse muscle atrophy: cause or consequence? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 15(3), 240–5.
- Puigserver, P., & Spiegelman, B. M. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ): Transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocrine Reviews*, 24(1), 78–90.
- Qin, B., Anderson, R. A., Kuzuya, T., Kitaura, Y., & Shimomura, Y. (2012). Multiple factors and pathways involved in hepatic very low density lipoprotein-apoB100 overproduction in Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rats. *Atherosclerosis*, 222(2), 409–416.
- Qin, L., Zhu, N., Ao, B.-X., Liu, C., Shi, Y.-N., Du, K., ... Liao, D.-F. (2016). Caveolae and Caveolin-1 Integrate Reverse Cholesterol Transport and Inflammation in Atherosclerosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(3), 1–17.
- Radak, Z., Chung, H. Y., & Goto, S. (2008). Systemic adaptation to oxidative challenge induced by regular exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 153–159.
- Roberts, C. K., & Sindhu, K. K. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sciences*, 84(21–22), 705–712.
- Rognmo, O., Hetland, E., Helgerud, J., Hoff, J., & Slordahl, S. A. (2004). High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation: Official Journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*, 11(3), 216–222.
- Rudich A, Tirosh A, Potashink R, Hemi R, Kanety H, B. N. (1998). prolonged oxidative stress impairs insulin-induced GLUT 4 translocation in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetes.*, 47(October), 1562–1569.
- Rudich, A., Kozlovsky, N., Potashnik, R., & Bashan, N. (1997). Oxidant stress reduces insulin responsiveness in 3T3-L1 adipocytes. *The American Journal of Physiology*, 272(5 Pt 1), E935-40.
- Ruotolo, G., & Howard, B. V. (2002). Dyslipidemia of the metabolic syndrome. *Current Cardiology Reports*, 4(6), 494–500.

- Sachdev, S., & Davies, K. J. A. (2008). Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radical Biology and Medicine*, *44*(2), 215–223.
- Salminen, A., & Vihko, V. (1983). Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica*, *117*(1), 109–113.
- Scientist, P., & Instruments, B. (1998). An Introduction to Reactive Oxygen Species. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America*, *25*(Figure 1), 1–13.
- Serviddio, G., Bellanti, F., & Vendemiale, G. (2013). Free radical biology for medicine: Learning from nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*, *65*, 952–968.
- Shadid, S., LaForge, R., Otvos, J. D., & Jensen, M. D. (2006). Treatment of obesity with diet/exercise versus pioglitazone has distinct effects on lipoprotein particle size. *Atherosclerosis*, *188*(2), 370–376.
- Shepherd, P. R., & Kahn, B. B. (1999). Glucose transporters and insulin action - Implications for insulin resistance and diabetes mellitus. *New England Journal of Medicine*, *341*(4), 248–57.
- Singh, R., Singh, A. P., Singh, M., & Krishan, P. (2011). Impact of obesity on hypertension-induced cardiac remodeling: Role of oxidative stress and its modulation by gemfibrozil treatment in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, *50*(2), 363–370.
- Singhal, R. K., Anderson, M. E., & Meister, a. (1987). Glutathione, a first line of defense against cadmium toxicity. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *1*(3), 220–3.
- Skalicky, J., Muzakova, V., Kandar, R., Meloun, M., & Rousar, T. (2009). Oxidative stress and metabolic syndrome in obese adults with and without controlled diet restriction. *Bratislava Medical Journal*, *110*(3), 152–157.
- Somani, S. M., & Husain, K. (2000). Part {IX} • Chapter 26 - Influence of exercise-induced oxidative stress on the central nervous system. *Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise*, 713–751.

- Sonta, T., Inoguchi, T., Tsubouchi, H., Sekiguchi, N., Kobayashi, K., Matsumoto, S., ... Nawata, H. (2004). Evidence for contribution of vascular NAD(P)H oxidase to increased oxidative stress in animal models of diabetes and obesity. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(1), 115–123.
- Souza, J. A., Vindis, C., Hansel, B., Negre-Salvayre, A., Therond, P., Serrano, C. V., ... Kontush, A. (2008). Metabolic syndrome features small, apolipoprotein A-I-poor, triglyceride-rich HDL3 particles with defective anti-apoptotic activity. *Atherosclerosis*, 197(1), 84–94.
- Krauss, R. (2004). Lipids and Lipoproteins in Patients With Type 2 Diabetes. Review article, 1496–1504.
- Steenvoorden, D. P. T., & Beijersbergen Van Henegouwen, G. M. J. (1997). The use of endogenous antioxidants to improve photoprotection. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 41(1–2), 1–10.
- Stensvold, D., Tjønnå, A., & Skaug, E. (2010). Strength training versus aerobic interval training to modify risk factors of metabolic syndrome. *Journal of Applied ...*, 108, 804–810.
- Steyers, C. M., & Miller, F. J. (2014). Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 15(7), 11324–11349.
- Stuehr, D. J. (1999). Mammalian nitric oxide synthases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1411(2), 217–230.
- Suganami, T., Nishida, J., & Ogawa, Y. (2005). A paracrine loop between adipocytes and macrophages aggravates inflammatory changes: Role of free fatty acids and tumor necrosis factor  $\alpha$ . *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 25(10), 2062–2068.
- Sundara Rajan, S., & Longhi, M. P. (2016). Dendritic cells and adipose tissue. *Immunology*, 149(4), 353–361.
- Sverdlov, A. L., Figtree, G. A., Horowitz, J. D., & Ngo, D. T. M. (2016). Interplay between Oxidative Stress and Inflammation in Cardiometabolic Syndrome. *Mediators of Inflammation*, 2016, 3–5.
- Tarpey, M. M., & Fridovich, I. (2001). Methods of Detection of Vascular Reactive Species: Nitric Oxide, Superoxide, Hydrogen Peroxide, and Peroxynitrite. *Circulation Research*, 89(3), 224–236.

- Thomas, T. R., Smith, B. K., Donahue, O. M., Altena, T. S., James-Kracke, M., & Sun, G. Y. (2004). Effects of omega-3 fatty acid supplementation and exercise on low-density lipoprotein and high-density lipoprotein subfractions. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 53(6), 749–754.
- Tintut, Y., Parhami, F., Boström, K., Jackson, S. M., & Demer, L. L. (1998). cAMP stimulates osteoblast-like differentiation of calcifying vascular cells. Potential signaling pathway for vascular calcification. *Journal of Biological Chemistry*, 273(13), 7547–7553.
- Tonkonogi, M., Walsh, B., Svensson, M., & Sahlin, K. (2000). Mitochondrial function and antioxidative defence in human muscle: effects of endurance training and oxidative stress. *The Journal of Physiology*, 528 Pt 2(2000), 379–88.
- Topp, R. (2005). Exercise and Functional Tasks Among Adults Who Are Functionally Limited. *Western Journal of Nursing Research*, 27(3), 252–270.
- Trejo-Gutierrez, J. F., & Fletcher, G. (2007). Impact of exercise on blood lipids and lipoproteins. *Journal of Clinical Lipidology*, 1(3), 175–181.
- Tsukiyama, H., Nagai, Y., Matsubara, F., Shimizu, H., Iwamoto, T., Yamanouchi, E., ... Tanaka, Y. (2016). Proposed cut-off values of the waist circumference for metabolic syndrome based on visceral fat volume in a Japanese population. *Journal of Diabetes Investigation*, 7(4), 587–593.
- Tumova, E., Sun, W., Jones, P. H., Vrablik, M., Ballantyne, C. M., & Hoogeveen, R. C. (2013). The impact of rapid weight loss on oxidative stress markers and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals. *J Obes*, 2013(Ci), 729515.
- Turunen, M., Olsson, J., & Dallner, G. (2004). Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1660(1–2), 171–199.
- Van Guilder, G. P., Hoetzer, G. L., Greiner, J. J., Stauffer, B. L., & Desouza, C. A. (2006). Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults 1569. *Obesity. (Silver.Spring)*, 14(1930–7381 (Print)), 2127–2131.

- Van Helvoort, H. A. C., Heijdra, Y. F., Thijs, H. M. H., Viña, J., Wanten, G. J. A., & Dekhuijzen, P. N. R. (2006). Exercise-induced systemic effects in muscle-wasted patients with COPD. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 38(9), 1543–1552.
- VASANKARI, T. J., KUJALA, U. M., VASANKARI, T. M., & AHOTUPA, M. (1998). Reduced oxidized LDL levels after a 10-month exercise program. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30, 1496–1501.
- Venditti, P., & Di Meo, S. (1996). Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 331(1), 63–68.
- Vikram, D. S., Rivera, B. K., & Kuppusamy, P. (2010). Free Radicals and Antioxidant Protocols. *Free Radicals and Antioxidant Protocols*, 610(3), 3–27.
- Vincent, H. K., Bourguignon, C., & Vincent, K. R. (2006). Resistance training lowers exercise-induced oxidative stress and homocysteine levels in overweight and obese older adults. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 14(11), 1921–1930.
- Wadley, A. J., Turner, J. E., & Aldred, S. (2016). Factors influencing post-exercise plasma protein carbonyl concentration. *Free Radical Research*, 50(4), 375–384.
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1796–1808.
- White, C. R., & Seymour, R. S. (2003). Mammalian basal metabolic rate is proportional to body mass<sup>2/3</sup>. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(7), 4046–4049.
- Wu, J., Xia, S., Kalionis, B., Wan, W., & Sun, T. (2014). The Role of Oxidative Stress and Inflammation in Cardiovascular Aging. *BioMed Research International*, 2014.
- Xu, H., Barnes, G. T., Yang, Q., Tan, G., Yang, D., Chou, C. J., ... Others. (2003). Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 112(12), 1821–1830.

- Xu, T., Ju, Z., Tong, W., Hu, W., Liu, Y., Zhao, L., & Zhang, Y. (2008). Relationship of C-reactive protein with hypertension and interactions between increased C-reactive protein and other risk factors on hypertension in Mongolian people, China. *Circulation Journal*, 72(8), 1324–1328.
- Yasunari, K., Maeda, K., Nakamura, M., & Yoshikawa, J. (2002). Oxidative stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reacting protein. *Hypertension*, 39(3), 777–780.
- Young, I. S., & McEneaney, J. (2001). Lipoprotein oxidation and atherosclerosis. *Biochemical Society Transactions*, 29(Pt 2), 358–62.
- Yu, J., Zheng, J., Liu, X. F., Feng, Z. L., Zhang, X. P., Cao, L. L., & Zhou, Z. P. (2016). Exercise improved lipid metabolism and insulin sensitivity in rats fed a high-fat diet by regulating glucose transporter 4 (GLUT4) and musclin expression. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 49(5), 1–6.
- Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: A comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337–349.

## 13. ANEXOS

### ANEXO 1. ACTA DE EVALUACIÓN DE BIOÉTICA



FACULTAD DE MEDICINA  
Comité de Bioética para la  
Investigación



#### ACTA DE EVALUACIÓN BIOÉTICA No. 19/2012

I. El Comité de Bioética de la Facultad de Medicina, de la Universidad de Valparaíso constituido por Juana Le Roy, tecnóloga médica, Presidenta; Iva Botelo, profesora de Castellano, Vice-presidenta; Ivanny Marchant, médico - cirujano, Secretaria; María Antonela Silva, enfermera - matrona; Josephine Botta, enfermera - matrona; Daniel Ciudad, kinesiólogo; y Patricia Herrera, eximadora de párvulos, en su sesión del día 6 de junio del 2012, declaran haber evaluado el protocolo experimental del proyecto "EFECTO DE UN PROTOCOLO DE EJERCICIOS AERÓBICOS, INTERVALOS Y RESISTENCIA MUSCULAR, SOBRE EL ESTADO DE RESERVA OXIDATIVO EN PACIENTES CON RIESGO DE PATOLOGÍA CARBO-METABÓLICA", presentado por la investigadora responsable Profesora Mauda Paz Arias, adscrita a esta Facultad.

II. Para su evaluación el Comité de Bioética revisó los siguientes antecedentes:

1. Protocolo n°45/2012, versión en español
2. Hoja Informativa de Consentimiento Informado y Ficha de Consentimiento Informado, versión en español, cuyos destinatarios son participantes de investigación.

III. En la valoración bioética del proyecto, el Comité consideró que dicha propuesta cumple con los principios éticos necesarios para su realización, entre otros, la de beneficencia y atención a potenciales riesgos; se concluyó que su pertinencia fundamentada radica en:

1. El diseño se ajusta a las Normas de Investigación en Seres Humanos. El estudio propuesto podrá aportar al entendimiento del efecto del ejercicio físico sobre el estado de salud y defensa antioxidante en pacientes con riesgo de patología cardio-metabólica del Programa de Salud Cardiovascular pertenecientes a CESFAM Placeros de la Ciudad de Valparaíso.
2. El potencial beneficio de esta investigación supera a los riesgos estimados en una cuantía no mayor a la habitual exposición de los sujetos de investigación.
3. El Consentimiento Informado da cuenta de la finalidad de la investigación en forma clara, explícita y respeta la voluntariedad del posible participante, además de otorgarle la oportunidad de retirarse en cualquier momento sin que ello le revista algún perjuicio; asegura la confidencialidad de los datos y de la identidad del sujeto; se precisa que no existen riesgos, ni costos involucrados como tampoco remuneración por participar; se especifica qué ocurrirá si:



4. colaboración del sujeto señalando tiempo que involucrará la aplicación de los instrumentos, y explicitando el compromiso de activar un protocolo de contención y posterior derivación si se detectara alguna sintomatología que así lo requiriese en los participantes; así también, el investigador da a conocer su teléfono y mail de contacto para ubicarlo en caso de cualquier consulta o duda.
5. Los antecedentes curriculares del Investigador Principal garantizan la ejecución del estudio dentro de los marcos éticos y técnicos aceptables.
6. Los miembros del Comité declararon no tener conflictos de interés.

IV. Por lo anterior, el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina aprueba el presente protocolo experimental, que se llevará a cabo en la Universidad de Valparaíso durante el año 2015, bajo la supervisión de la investigadora responsable, Profesora Marijyn Paz Azaos.

Firman en representación del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina

  
Juanita Le Boy-Bazda  
Presidenta

  
Joanny Marchant Ramirez  
Secretaria

Valparaíso, 13 de junio de 2015

C/C:

- Secretaría CBI-FAMHD
- Comité de Investigación Facultad de Medicina

## ANEXO 2. CONSENTIMIENTO INFORMADO



COMITÉ DE BIOÉTICA  
FACULTAD DE MEDICINA



### EFFECTO DE UN PROTOCOLO DE EJERCICIOS AERÓBICOS INTERVALICOS Y RESISTENCIA MUSCULAR, SOBRE EL ESTADO DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON RIESGO DE PATOLOGÍA CARDIO-METABOLICA.

El presente consentimiento puede contener detalles que usted no comprenda, por lo que se deja de manifiesto la total voluntad e responder cualquier tipo de duda o inquietud que surja dentro de todo este proceso, por parte de los investigadores.

#### I- INTRODUCCIÓN:

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación. Antes de que decida participar, por favor lea este documento cuidadosamente. Puede formular todas las preguntas que tenga, para asegurarse de que entiende los procedimientos del estudio, incluyendo los riesgos y los beneficios.

#### II- PROPÓSITO DEL ESTUDIO:

El estudio al cual usted accederá voluntariamente a participar, tiene como finalidad mejorar los indicadores que afectan su condición de salud. El objetivo de nuestra intervención es lograr mediante ejercicios físicos, obtener una mejora tanto en sus indicadores de riesgo cardiovascular, como de calidad de vida.

#### III- PARTICIPANTES DEL ESTUDIO:

Usted podrá ser invitado a participar en este estudio en base a los antecedentes de salud, consignados en la ficha clínica del consultorio de Atención Primaria donde pertenece. Además, se considerará el pertenecer al programa Cardiovascular de su consultorio. Se formaran dos grupos, G1 de Control que no tendrá intervención con ejercicio físico y G2 al cual se le aplicará un protocolo de ejercicio físico.

#### IV- PROCEDIMIENTOS:

El G1 definido como control, no será intervenido del punto de vista del ejercicio físico. G2, por su parte, será intervenido a través de la aplicación de un protocolo de ejercicio físico de tipo aeróbico, intervalico y de resistencia muscular, por un período de cuatro meses y se evaluará en las dependencias del Centro de Salud a que usted pertenece. Ambos grupos se les evaluará los parámetros de estrés oxidativo, a través de la obtención de una muestra de sangre por personal de CENTROMED Valparaíso, antes y después de la intervención, las cuales serán analizadas a través de envases de laboratorio de nuestra universidad. De acuerdo con el grupo al que haya sido aleatorizado, se trabajará interviniendo con un protocolo de ejercicio adecuado para sus condiciones de salud. Los ejercicios se realizarán en dependencias del consultorio Pliceras, tres veces por semana y tendrá una duración final de cuatro meses, reevaluando los parámetros. Siempre estará supervisado por el investigador y colaboradores.

#### V- RIESGOS O INCOMODIDADES:

Al realizar los ejercicios el paciente podría sentir cansancio o molestia física leve, fundamentalmente a nivel de la musculatura de extremidades inferiores e inferiores. Los signos vitales estarán monitoreados, y estarán supervisados por el grupo de investigadores. En caso de presentar alguna sintomatología o descompensación se cuenta con el apoyo del personal de salud correspondiente a su consultorio, quienes se harán cargo de estabilizar en caso de emergencia.

#### VI- BENEFICIOS:

Sobre la base de los efectos positivos de la actividad física, usted podrá incrementar la capacidad funcional, aumentar los años de vida independiente y mejorar la calidad de vida. Además, del aprendizaje de herramientas para realizar ejercicio en forma autónoma, que permita mantener un estado favorable.

#### VII- COSTOS:

No existe costo adicional para los participantes. Los gastos de traslado hacia y desde el lugar de la toma de muestras sanguíneas, CENTROMED Valparaíso, serán cubiertos por los investigadores.



**FICHA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES:**

El estudio "Efecto de un protocolo de ejercicios aeróbicos, intervalicos y resistencia muscular, sobre el estado de estrés oxidativo en pacientes con riesgo de patología cardio-metabólica".

Entiendo que:

- 1) El proyecto tiene como finalidad mejorar los indicadores de riesgo cardiovascular que afectan mi condición de salud, mediante la intervención de ejercicios físicos.
- 2) Seré asignado aleatoriamente a uno de los grupos de estudio, G1 de Control que no tendrá intervención con ejercicio físico y G2 al cual se le aplicará un protocolo de ejercicio físico y en todo momento estaré supervisado por los investigadores del proyecto.
- 3) Se me extraerá sangre al inicio y al finalizar el estudio por personal de CENTROMED Valparaíso.
- 4) Entiendo que no recibiré ningún beneficio económico por mi participación en el estudio y los gastos de traslado hacia el lugar de toma de muestra sanguínea, CENTROMED Valparaíso, serán costeados por los investigadores.
- 5) Toda mi información que se obtenga, será trabajada de forma totalmente confidencial y sólo será utilizada para efectos de la investigación, por lo que no se revelará mi identidad.
- 6) Mi participación en este estudio es voluntaria. Puedo decidir no participar o retirarme del estudio en cualquier momento sin que esto signifique alguna penalidad o pérdida de beneficios para los cuales tenga derecho. En resguardo de mi salud, mi participación en este estudio puede ser detenida en cualquier momento por los investigadores.
- 7) Me ha sido explicado y he leído y entendido la información que se me ha proporcionado. Si tengo alguna duda puedo contactar al investigador responsable o a cualquiera de los co-investigadores. (Prof. Marilyn Paz Teléfono de contacto: (032) 2995667).

Conforme a lo anterior, estoy de acuerdo en participar en este estudio, autorizo el uso y la divulgación de mi información de salud a las entidades antes mencionadas en este consentimiento para los propósitos descritos anteriormente.

Al firmar esta hoja de consentimiento, entiendo que cuento con la potestad de poder retirarme del mismo en el momento que estime conveniente.

Yo, \_\_\_\_\_ Rut \_\_\_\_\_, doy mi libre autorización para participar en este estudio.

**Firma:**

Yo, \_\_\_\_\_ Rut \_\_\_\_\_, he explicado cuidadosamente la naturaleza, procedimientos y eventuales riesgos del estudio a la persona mencionada anteriormente y he sido testigo de que se ha completado el documento de consentimiento informado.

**Cargo e Institución:** \_\_\_\_\_

**Firma:**

**Fecha:** \_\_\_\_\_ (Día- Mes-Año)



**VIII- INCENTIVO PARA EL PARTICIPANTE:**

Los participantes no recibirán ningún beneficio económico por su participación en el estudio.

**IX- PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD**

Toda la información que sea obtenida, será trabajada de forma totalmente confidencial, a través de código numéricos y/o letras, y sólo será utilizada para efectos de la investigación, por lo que no se revelará la identidad de ningún participante. Los resultados de esta investigación pueden ser publicados, pero su identidad no será divulgada. Si usted desiste en participar de la investigación, no se usará su información personal ni de su salud para este estudio. La autorización para el uso y el acceso de la información para los propósitos de la investigación es totalmente voluntaria.

**X- PARTICIPACIÓN Y RETIRO VOLUNTARIOS:**

La participación en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento. Su decisión no resultará en ninguna penalidad o pérdida de beneficios para los cuales tenga derecho. En resguardo de su salud, su participación en este estudio puede ser detenida en cualquier momento por los investigadores del estudio.

**XI- PREGUNTAS:**

Si tiene alguna pregunta sobre este estudio o sobre su participación en el mismo, o si piensa que ha sufrido alguna lesión asociada a los ejercicios realizados, usted puede contactar al investigador responsable o a cualquiera de los co-investigadores. (Prof. Marilyn Paz Teléfono de contacto: (032) 2995667).

Este consentimiento cuenta con la aprobación del Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la UV. Pudiendo contactarse, en caso necesario, con este comité a través de la secretaria administrativa Srta. Ana María Carreño, fono: (32)2507370.

Firme este documento solo cuando haya aclarado sus dudas y recibido respuestas satisfactorias para todas sus preguntas. Si usted firma aceptando participar en este estudio, recibirá una copia firmada, con la fecha en que firmó este consentimiento.

**Investigador responsable: Prof. Marilyn Paz Araos Msc**  
**Co- Investigadores: Prof. Carlos Jara Gutiérrez Msc**  
**Colaboradores: Klgo. Andrés Orellana Uribe PhD**  
**Maria Teresa Vasquez**  
**Claudia Moraga**

Teléfono de contacto: (032) 2995667 ; Dirección: Brasi 1560, Valparaíso  
Institución: Carrera de Kinesiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valparaíso.

Fecha: \_\_\_\_\_ (Día- Mes-Año)

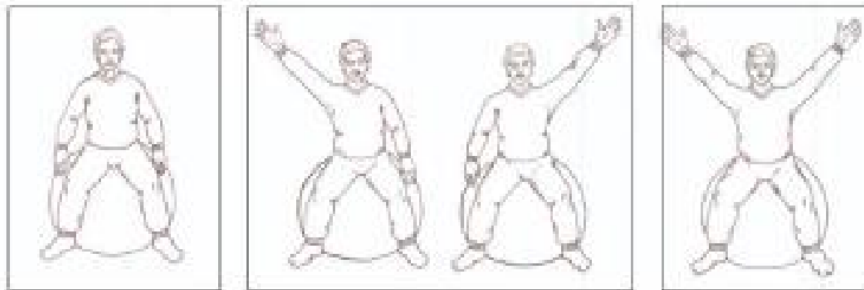
## ANEXO 3. PROTOCOLO DE EJERCICIOS

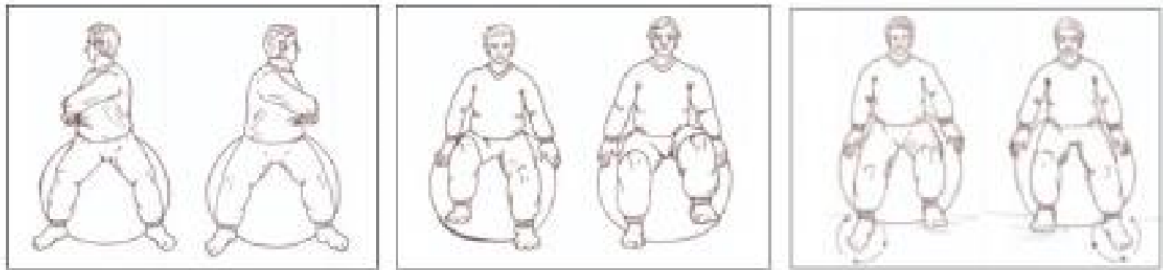
### I) Calentamiento

- Se comienza con la medición de la frecuencia cardíaca basal de cada participante; una vez obtenida la medición, se comienza el ejercicio.
- Tiempo de duración calentamiento: 10 minutos.
- Intensidad máxima de trabajo: 40% frecuencia cardíaca máxima.

A) Sentado sobre el balón.

1. Elevación de un solo brazo.
2. Elevación de ambos brazos.
3. Rotaciones de tronco.
4. Elevación de talón alternado.
5. Círculos de tobillo.





*Juan Carroño*

B) En bípedo, sin balón.

1. Balanceo con una sola pierna alternada.
2. Equilibrio con una sola pierna al frente.
3. Equilibrio con una sola pierna atrás.



*Juan Carroño*

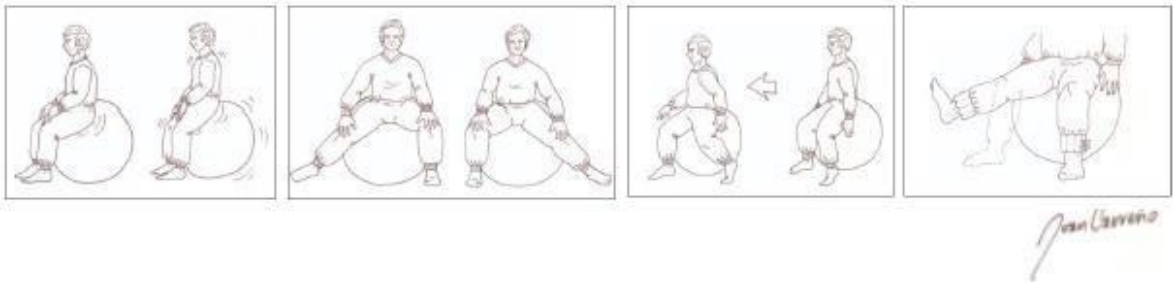
- Se procede a la segunda medición de la frecuencia cardíaca.

## **II) Rutina de Ejercicios Aeróbicos Interválicos y de Resistencia Muscular**

- Se trabajarán en la modalidad de circuitos de entrenamiento. Se realizarán tres circuitos, los cuales se ejercitarán en dos series seguidas cada uno, con series de quince repeticiones cada ejercicio.
- Cada circuito tiene un tiempo de duración de diez minutos.
- Con una intensidad de trabajo entre el 50% y 80% de la FCM.
- Luego de terminada cada serie de circuitos realizados, se debe medir la frecuencia cardíaca de cada participante. Por lo cual, se deberían realizar tres series de mediciones de la frecuencia cardíaca.

### **II.I. Circuito**

1. Sentado en el balón, saltos pequeños.
2. Sentado en el balón, squatch laterales.
3. Sentado, marcha en el balón.
4. Ejercicio de fuerza de extensión de rodilla. Sedente sobre el balón, se realiza con tobilleras.

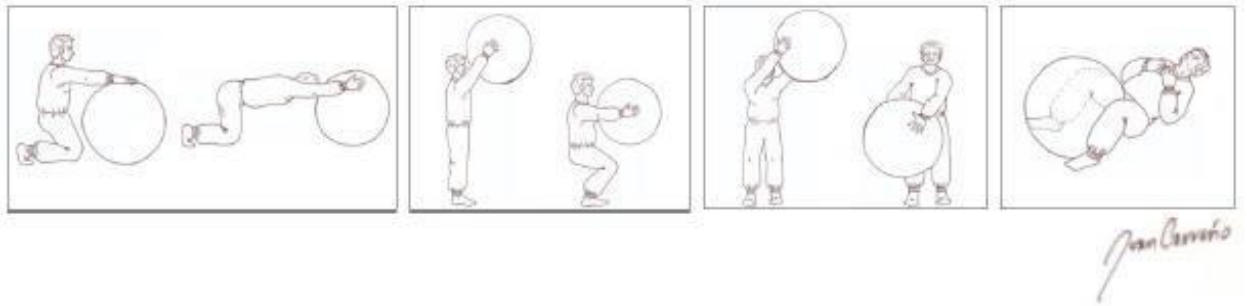


---

### **II.II. Circuito**

1. Manos sobre el balón, pies paralelos, rodillas al frente flectadas, tronco inclinado, alejo y acerco el balón.
2. Sentadillas levantando el balón.
3. Levanto el balón en diagonal.

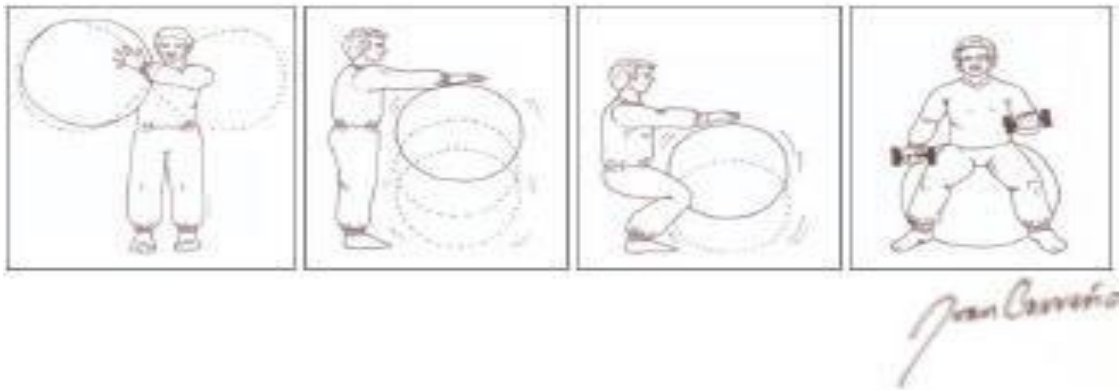
4. Aductores en colchoneta, manteniendo 3 segundos una contracción isométrica, con balón entre los muslos.



÷

### **II.III. Circuito**

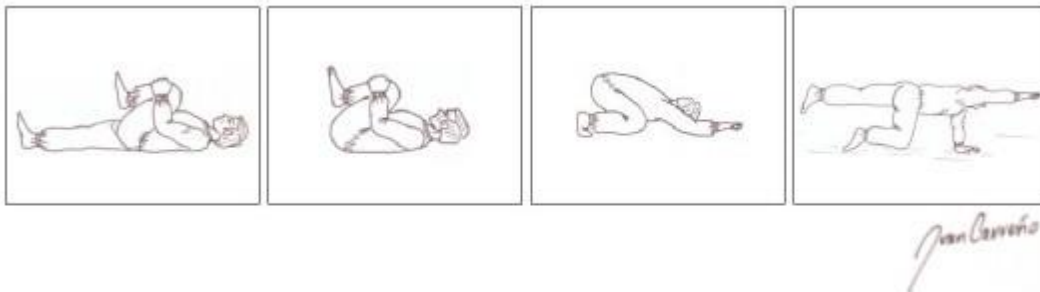
1. Movimiento en 8 con balón.
2. Botear el balón.
3. Botear el balón con sentadilla.
4. Sentado en balón, bíceps con mancuernas.



### III) Elongación y relajación

- Tiempo de duración: 10 minutos.
- Intensidad de trabajo: desde la frecuencia cardíaca terminado el trabajo anterior hasta volver a la frecuencia cardíaca basal.

1. En colchoneta, llevar rodillas alternada al pecho y mantener 10 segundos.
2. Llevar ambas rodillas al pecho y mantener 10 segundos.
3. Inclinado y sentado, llevo glúteos a los talones.
4. Cuatro apoyos, elevación alternada de rodilla y brazo contrario.



Se recomienda el uso de música de relajación (alternativa) con el objetivo de lograr un momento de meditación sobre lo que el paciente está experimentando y sintiendo, que tome consciencia de su respiración, frecuencia cardíaca, y de cada una de sus extremidades y partes de su cuerpo, para lograr una relajación consciente de cada uno de sus músculos y obtener una sensación de bienestar.

Durante las dos primeras semanas de comenzado el programa de ejercicios, que tiene una duración total final de tres meses, se realizará el período de “Educación y Aprendizaje” de estos ejercicios, así como de la medición de la frecuencia cardíaca por parte de los participantes, con el objetivo de lograr una correcta ejecución de los ejercicios con el fin de evitar lesiones; así también, se considera un tiempo adecuado para que los participantes puedan adaptarse a los implementos a usar y obtengan la confianza necesaria para ejecutar de manera correcta las rutinas de ejercicios.

Este período de “Educación y Aprendizaje” consiste en realizar las mismas rutinas de ejercicios antes descritas, pero sólo se ejecutará una serie de cada circuito, de manera más lenta y pausada para que cada uno de los participantes se pueda mover con ritmo y fluidez, y además puedan procesar y aprender los ejercicios.

**ANEXO 4. ESCALA DE ESFUERZO PERCIBIDO DE BOHR (CR-20)**

<b>Escala de Esfuerzo Percibido de Borg</b>	
<b>6</b>	
<b>7</b>	Muy, muy leve
<b>8</b>	
<b>9</b>	Muy leve
<b>10</b>	
<b>11</b>	Bastante leve
<b>12</b>	
<b>13</b>	Más bien duro
<b>14</b>	
<b>15</b>	Duro
<b>16</b>	
<b>17</b>	Muy duro
<b>18</b>	
<b>19</b>	Muy, muy duro
<b>20</b>	