

BIOLOGÍA MOLECULAR Y GENÉTICA MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

73. ALOPURINOL, ESTRÉS OXIDATIVO Y EJERCICIO FÍSICO

Gómez-Cabrera MC, Doménech E, Martínez-Bello VE, Sanchís-Gomar F, Nacimiento AL, Viña J.
Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia.

Introducción: El ejercicio físico produce radicales libres. Nuestro grupo de investigación ha demostrado que los radicales libres únicamente se producen cuando el ejercicio se realiza hasta el agotamiento. Nosotros consideramos que la xantina oxidasa (XO) está implicada en la producción de radicales libres durante el ejercicio y hemos demostrado que el alopurinol, un inhibidor de la enzima, previene el daño asociado al ejercicio tanto en animales como en humanos.

Objetivos: El objetivo de nuestro trabajo fue estudiar el papel de la XO como fuente de radicales libres en el medio extracelular en el músculo esquelético tras un protocolo intenso de contracciones isométricas. En este trabajo también nos planteamos el estudio del papel del radical superóxido sobre la función contráctil y la fatiga muscular (in vitro).

Materiales y métodos: 34 ratones macho adultos C57BL/6 fueron utilizados en este estudio. En nuestra primera serie de experimentos determinamos los niveles de radical superóxido en el medio extracelular del músculo gastrocnemio de ratones utilizando la técnica de la microdiálisis.

En nuestra segunda serie de experimentos dos grupos musculares: extensor digitorum longus (EDL) y el sóleo fueron incubados con oxipurinol (0,67 mM) y superóxido dismutasa (500 U/mL) exógenos y determinamos las modificaciones de sus características contráctiles y la fatiga.

Resultados: 180 contracciones isométricas de 15 minutos de duración indujeron un rápido incremento en la reducción del citocromo c como índice del aumento en la producción de radical superóxido en el medio extracelular en músculo gastrocnemio de ratones control. La administración de oxipurinol y PEG-superóxido dismutasa disminuyó de forma significativa la producción de radical superóxido tras el protocolo de contracción. Ambos tratamientos disminuyeron, del mismo modo, la máxima fuerza isométrica y el pico de fuerza máxima en el músculo EDL pero no afectó ninguna otra característica contráctil. Los sóleos tratados con oxipurinol siguieron el mismo patrón que los EDLs, sin embargo los tratados con superóxido dismutasa no mostraron ninguna diferencia significativa en sus características contráctiles cuando los comparamos con los controles. Para determinar el efecto de los antioxidantes sobre la fatiga los músculos fueron estimulados con contracciones musculares isométricas durante 5 minutos y determinamos el porcentaje de pérdida de fuerza. Ninguno de los tratamientos modificó la fatiga tanto en EDL como en sóleo.

Conclusiones: Nuestros resultados demuestran que el radical superóxido generado durante la contracción muscular tiene efectos positivos en el acoplamiento excitación-contracción y es necesario para garantizar una función contráctil óptima.

76P. PREVALENCIA DE LAS MUTACIONES C282Y, H63D Y S65C DEL GEN DE LA HEMOCROMATOSIS

HEREDITARIA EN DEPORTISTAS DE ÉLITE

Úbeda N¹, González-Medina A¹, Palacios N², Luis-Celada O², González S³, García-Juan B¹, Iglesias-Gutiérrez E¹.
¹Dpto. de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad San Pablo-CEU, Madrid. ²Servicio de Medicina interna, Endocrinología y Nutrición. Centro de Medicina del Deporte. Consejo Superior de Deportes. ³Dpto. de Biología Funcional (Área de Inmunología). Universidad de Oviedo.

La hemocromatosis hereditaria es una enfermedad genética, autosómica recesiva, que produce una acumulación excesiva de hierro en el organismo, lo que puede dar lugar a lesiones en determinados tejidos así como constituir un factor de riesgo para numerosas patologías. Se asocia con la presencia de distintas mutaciones en el gen HFE: la C282Y en homocigosis, o en heterocigosis conjuntamente con la H63D, si bien tiene una penetrancia incompleta. También se ha descrito que la presencia conjunta de las mutaciones H63D y S65C puede aumentar la acumulación de hierro sin ocasionar la patología.

Numerosas publicaciones han analizado las mutaciones que afectan a este gen en el ámbito clínico, aunque los estudios existentes en deportistas son escasos.

El objetivo de este estudio fue valorar la prevalencia de las distintas mutaciones del gen HFE en futbolistas de alto nivel.

En el estudio participaron 38 futbolistas de élite (19 varones de un equipo de Primera División y 19 mujeres de la Selección Española), que donaron voluntariamente muestras de saliva tras firmar un consentimiento informado. Se determinó la presencia de la mutación mediante PCR-RFLP.

Los resultados de las frecuencias genotípicas para las mutaciones analizadas se muestran en la Tabla 1.

C282Y	H63D	S65C	% Individuos
+/+	+/+	+/+	47%
+/+	+/-	+/+	50%
+/-	+/-	+/+	3%

+/+: Homocigotos normales; +/-: heterocigotos para la mutación; -/-: homocigotos para la mutación.

76P. Tabla 1.

No hemos observado diferencias estadísticamente significativas entre géneros. Asimismo, se obtuvieron las frecuencias alélicas para cada mutación siendo 1,3% para la C282Y, 22,4 % para la H63D y 0 % para la S65C. Las frecuencias alélicas observadas en las mutaciones C282Y y H63D son similares a las descritas para población española general y para deportistas de élite españoles, aunque significativamente menores que las observadas en ciclistas franceses. La mutación S65C no ha sido nunca descrita en deportistas y nuestros datos indican una ausencia de esta mutación en los individuos analizados. La frecuencia alélica en

la población general, aunque pequeña, es levemente mayor. Este estudio ha sido financiado por Boehringer-Ingelheim España, S.A. y el Consejo Superior de Deportes (02/UPR10/07).

93. BASES MOLECULARES DEL EFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA Y DEL ENTRENAMIENTO EN EL RENDIMIENTO FÍSICO

Rodríguez-Bies E, Berral FJ, Navas P, López-Lluch G. Centro Andaluz de Biología del Desarrollo. Universidad Pablo de Olavide. Sevilla.

Introducción: El ejercicio aeróbico moderado (EA) y la restricción calórica (RC), tienen efectos positivos sobre la salud afectando no solo el rendimiento físico (RF), fuerza y energía muscular sino también la morbilidad y a la mortalidad, la bioenergética del músculo y al daño oxidativo. Se ha demostrado que tanto la restricción calórica (RC) como el ejercicio aeróbico moderado (EA) aumentan la longevidad y mejoran el rendimiento energético, disminuyendo la producción de los radicales libres responsables del daño oxidativo. Utilizando como animal modelo ratones macho swiss-OFl, en el presente estudio, nos hemos planteado la hipótesis de que la conjunción de la RC con el EF afectaría positivamente y de manera sinérgica al RF.

Material y métodos: Mantuvimos a los animales durante 6 meses en cuatro grupos: dos grupos sedentarios, AL (ad libitum) y otros dos bajo RC y entrenados, ALT (ad libitum) y RCT. A lo largo de estos meses realizamos diferentes estudios sobre las actividades comportamentales, resistencia y coordinación y al final del tratamiento se les sometió a una prueba de esfuerzo hasta el agotamiento para después proceder inmediatamente al sacrificio para los análisis histológicos y bioquímicos. Esto nos permitió obtener una visión completa del fenómeno.

Resultados: Hemos evidenciado que los animales RCT demostraron una mayor coordinación y capacidad motora que el resto de los grupos. Y finalmente, los animales entrenados (ALT y RCT) y aquellos sedentarios bajo RC fueron los que presentaron una mayor resistencia a un ejercicio extremo. Esta mayor resistencia se vio acompañada por una mayor capacidad para movilizar azúcares y lípidos durante el ejercicio a tenor de los niveles de glucosa y triglicéridos en plasma, permitiendo así una mayor afluencia de nutrientes útiles para la actividad muscular. Igualmente, los animales entrenados, y sobre todo los RCT, presentaron un menor daño muscular tal y como se reflejó en los animales RC y RCT cuando se determinaron los niveles de creatina quinasa en plasma y un menor estrés oxidativo tras el ejercicio determinado por capacidad antioxidante. Estas diferencias se vieron evidenciadas por pequeñas modificaciones en las actividades de los complejos de la cadena de transporte de electrones mitocondrial sobre todo en cuanto a la ratio complejo IV/complejo I, un parámetro relacionado con la producción de radicales de oxígeno en la mitocondria. Los animales entrenados mostraron niveles más bajos en esta ratio siendo los animales bajo RC los que mostraron un mayor descenso. Otros parámetros como los niveles de coenzima Q y vitamina E mostraron pequeñas variaciones.

Conclusiones: Los resultados sugieren que la RC asociada al EA, afecta levemente a la actividad mitocondrial muscular pero puede afectar significativamente a la producción de niveles de radicales de oxígeno permitiendo una actividad muscular más balanceada durante el ejercicio. De esta manera, el ejercicio físico producirá un menor daño oxidativo tanto en el músculo como en el plasma en aquellos animales sometidos a RC y a actividad física. De igual manera, la RC mejora la movilización

de nutrientes durante el ejercicio manteniendo mayores niveles de glucosa y triglicéridos en plasma como suministradores de energía al músculo.

Este trabajo ha sido financiado por el Centro Andaluz de Medicina Deportiva de la Consejería de Turismo, Comercio y Deporte como proyecto dentro del ámbito de la medicina del deporte, convocatoria 2005.

94P. INFLUENCIA DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA Y EL ENTRENAMIENTO AERÓBICO MODERADO SOBRE EL COMPORTAMIENTO Y LA CAPACIDAD FÍSICA

Rodríguez-Bies E, Cadena M, Carrión AM, Navas P, López-Lluch G. Centro Andaluz de Biología del Desarrollo. Universidad Pablo de Olavide. Sevilla.

Introducción: El descenso de la actividad muscular durante el envejecimiento parece estar ligado principalmente al empeoramiento de la función mitocondrial. Se ha demostrado que tanto la restricción calórica (RC) como el ejercicio aeróbico moderado (EA) aumentan la longevidad y mejoran el rendimiento energético, disminuyendo la producción de los radicales libres responsables del daño oxidativo. La RC es hasta la fecha la única intervención que de manera consistente incrementa la esperanza de vida en todos los organismos en los que se ha estudiado además de mejorar las capacidades motoras de estos organismos durante el envejecimiento.

Material y métodos: Mantuvimos durante 6 meses los animales en cuatro grupos: dos grupos sedentarios, AL (ad libitum) y otros dos bajo RC y entrenados, ALT (ad libitum) y RCT. A lo largo de estos meses se realizaron estudios sobre el comportamiento la resistencia física y la coordinación motora. Al final del tratamiento se les sometió a una prueba de esfuerzo hasta el agotamiento para después proceder inmediatamente al sacrificio para los análisis bioquímicos.

Resultados: No observamos diferencias significativas en cuanto al peso de la población. Hemos evidenciado que los animales entrenados tanto RCT como ALT presentaron modificaciones en su comportamiento respecto a los animales sedentarios. El entrenamiento, independientemente de la dieta, produjo un descenso en la actividad exploratoria de los animales. Asimismo los RCT demostraron una mayor coordinación y capacidad motora que el resto de los grupos. Y finalmente, los animales entrenados (ALT y RCT) y aquellos sedentarios bajo RC fueron los que presentaron una mayor resistencia a un ejercicio extremo. Esta mayor actividad se vio acompañada por una mayor capacidad de movilización de glucosa y triglicéridos en aquellos animales sometidos a RC.

Conclusiones: Nuestro estudio demuestra así que el entrenamiento y la RC permiten mejorar la coordinación motora e incrementar la resistencia en el ejercicio. Las modificaciones en el comportamiento de los animales bajo RC y entrenamiento pueden indicar una mayor capacidad de aprendizaje o una menor necesidad exploratoria. La RC, per se, permite una mayor movilidad de nutrientes útiles para la actividad muscular durante el ejercicio. Y finalmente, la RC junto con el entrenamiento produce un descenso en el daño muscular y el estrés oxidativo, cosa que mejoraría la recuperación del organismo tras el ejercicio.

Este trabajo ha sido financiado por el Centro Andaluz de Medicina Deportiva de la Consejería de Turismo, Comercio y Deporte como proyecto dentro del ámbito de la medicina del deporte, convocatoria 2005.

109P. DAÑO OXIDATIVO A PROTEÍNAS SÉRICAS INDUCIDO POR EL ESFUERZO FÍSICO AGUDO EN SUJETOS SANOS

Berzosa C, Gómez-Trullén EM, Piedrafita E, Fuentes-Broto L, Miana-Mena FJ, Aranda M, Serrano E, García JJ.
Áreas de Fisiología y Educación Física-Deportiva. Universidad de Zaragoza.

Introducción: El ejercicio físico aumenta el metabolismo aerobio en el tejido muscular lo que implica un mayor consumo de oxígeno en la mitocondria. Aproximadamente el 2-3% del oxígeno que ingresa en la cadena respiratoria deriva en la formación de radicales libres. Por ello, es evidente que la mayor actividad oxidativa mitocondrial determina una superproducción de radicales libres. Nuestro objetivo fue estudiar los efectos sobre el estrés oxidativo en las proteínas séricas en un grupo de sujetos que realizan ejercicio físico agudo.

Material y métodos: La población estudiada fue un grupo de 21 hombres sanos con una edad de 23.10 ± 0.4 años y un consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}) de 43.85 ± 1.7 mL/Kg/min. Realizaron tres cicloergometrías: La primera, para calcular el VO_{2max} , consistente en un protocolo de ejercicio progresivo; la segunda, un ejercicio extremo hasta la extenuación y la última, una ergometría con una intensidad de trabajo correspondiente al 70% del VO_{2max} durante 30 minutos. Las muestras de sangre se obtuvieron por venocisis en el codo, la primera, en reposo, antes del inicio de la primera cicloergometría (A), y las otras tres inmediatamente tras las pruebas indicadas arriba (B, C y D respectivamente). La oxidación proteica se calculó por espectrofotometría cuantificando los restos carbonilo de las proteínas séricas por el método de la 2,4-dinitrofenilhidracina.

Resultados: La carbonilación proteica en las muestras plasmáticas fue menor en A, $2.66 \pm 0.1 \mu M$, que tras las tres ergometrías, B: $2.87 \pm 0.08 \mu M$, C: $2.88 \pm 0.11 \mu M$ y D: $2.74 \pm 0.11 \mu M$. Las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$) al comparar el reposo (A) con el postesfuerzo de la primera prueba de ejercicio progresivo (B).

Conclusiones: Estos resultados sugieren que bajo las condiciones experimentales de este estudio la sobreproducción de radicales libres durante el ejercicio físico conlleva daño oxidativo a las proteínas plasmáticas con una severidad que se relaciona con el tipo de ejercicio realizado.

126P. EFECTO COMBINADO DE LA NORADRENALINA Y LA PROTEÍNA DEL SHOCK TÉRMICO EN LA FUNCIÓN QUIMIOTÁCTICA DE NEUTRÓFILOS. PAPEL DURANTE UNA SESIÓN DE EJERCICIO MODERADO

Hinchado MD, Ortega E.
Dept. de Fisiología, Facultad de Ciencias, UEX

Introducción: El ejercicio y el estrés asociado al mismo incrementan las concentraciones de la proteína extracelular del shock térmico (Hsp72) y de Noradrenalina (NA) en la sangre. La Hsp72 añadida exógenamente posee actividad *chaperone* y de citoquina, y la NA también es un potente neuroinmunomodulador. Recientes estudios en nuestro laboratorio demuestran que tanto la Hsp72 como la NA estimulan a concentraciones fisiológicas la fagocitosis y la capacidad microbicida de neutrófilos de individuos sedentarios durante una sesión puntual de ejercicio moderado (55% VO2 max). El objetivo de esta investigación ha sido evaluar el efecto conjunto de estos dos inmunomoduladores

res y si la presencia intacta de receptores α - y β -adrenérgicos es necesaria para la modulación de los neutrófilos por la Hsp72.

Material y métodos: *Sujetos:* 10 hombres voluntarios sanos con edades comprendidas entre los 23 y 25 años, físicamente inactivos y no fumadores ni consumidores habituales de alcohol.

Aislamiento de neutrófilos: Las muestras de sangre se centrifugaron en dos medios separadores de diferente densidad (Histopaque) recogiendo el anillo perteneciente a los neutrófilos, que fueron lavados en medio Hanks' y ajustados a 10^6 células $x ml^{-1}$ de medio.

Ensayos de quimiotaxis: Fue evaluada siguiendo una modificación de la técnica original descrita por Boyden. Así, dispusimos alícuotas de 300 μl de la suspensión de neutrófilos en la parte superior del compartimiento de la cámara de Boyden, en la cual también añadimos 0,87 ng/ml de NA y/o 7,66 ng/ml de Hsp72 tanto en presencia como en ausencia de 10^{-5} M de propranolol y/o fentolamina. Las concentraciones de Hsp72 y NA utilizadas fueron las determinadas en la sangre (por ELISA y HPLC) de los individuos sedentarios tras una sesión aguda de 45 min de ejercicio sobre una bicicleta ergométrica al 55% de la VO2 max. Se usó un filtro de policarbonato de 3 μm de diámetro. En la parte inferior de la cámara se introdujo fMLP (10^{-8} M), como quimioatrayente. Las cámaras fueron incubadas durante 90 min a 37°C y un 5% CO_2 . Finalmente se valoró el índice de quimiotaxis en cada uno de los filtros.

Resultados: Los resultados muestran que la estimulación de la quimiotaxis por la Hsp72 desaparece cuando bloqueamos tanto los receptores α - como β -adrenérgicos, al igual que ocurre con la NA. El efecto sobre la quimiotaxis de estas dos moléculas es mayor de forma conjunta que por separado, tanto si la NA es añadida minutos antes que la Hsp72 al ensayo como si las dos se añaden a la vez.

Conclusiones: Concentraciones "post-ejercicio" de Hsp72 y NA estimulan la quimiotaxis de los neutrófilos y ésta estimulación es mayor cuando ambas actúan conjuntamente. Además, tanto los receptores α -como β -adrenérgicos participan en esta estimulación, hecho novedoso y en nuestra opinión fisiológicamente importante para el caso de la Hsp72. PRI: 2PR04A076.

127. PAPEL DEL FACTOR NUCLEAR KAPPA-BETA (NF- κ B), DE LA QUINASA REGULADA POR SEÑALES EXTRACELULARES (ERK) Y DE LA FOSFOINOSITOL 3-FOSFATO QUINASA (IP3-K) EN LA ESTIMULACIÓN DE LA CAPACIDAD MICROBICIDA DE LOS NEUTRÓFILOS POR LA PROTEÍNA DE CHOQUE TÉRMICO DE 72 KDA (HSP72) DURANTE EL EJERCICIO FÍSICO

Martín L, Ortega E.
Dpto. Fisiología. Facultad de ciencias. UEX. Badajoz

Introducción: Los efectos del ejercicio en la respuesta inmunitaria innata están mediados por hormonas y factores de estrés, considerados "señales de daño" por el sistema inmunitario. Estudios recientes en nuestro laboratorio han demostrado que sesiones puntuales de ejercicio físico (55%-70% VO_{2max}) producen un aumento en la concentración de Hsp72 en sangre, concentración que es efectiva para estimular *in vitro* el proceso fagocítico de los neutrófilos a través de receptores tipo toll2 (TLR2). En monocitos la estimulación de estos receptores libera moléculas de señalización intracelular tales como el factor nuclear kappa-beta (NF- κ B) y la quinasa regulada por señales extracelulares (ERK). Estas

señales intracelulares, junto con la fosfoinositol 3-fosfato quinasa (IP3-K), forman parte de rutas de señalización comunes en las células fagocíticas. El objetivo de esta investigación fue conocer la importancia de estas señales en la estimulación de los neutrófilos por Hsp72 durante sesiones puntuales de ejercicio físico.

Material y métodos: El estudio se realiza *in vitro* sobre neutrófilos aislados de sangre venosa periférica de individuos jóvenes (23-25 años) de vida sedentaria. Para evaluar la capacidad microbicida se incubaron los neutrófilos con Hsp72 a la concentración fisiológica alcanzada tras una sesión de ejercicio físico sobre bicicleta ergométrica (1 hora al 70% VO₂max), en presencia o ausencia de inhibidores farmacológicos de NF-κβ (Bay11-7082), ERK (PD98,059) e IP3-K (Wortmanina).

Resultados: La capacidad microbicida de los neutrófilos humanos aumentó significativamente cuando los neutrófilos se incubaron con la Hsp72. Este aumento desaparece en presencia de cualquiera de los inhibidores de NF-κβ, ERK o IP3-K a las diferentes concentraciones utilizadas. No se observaron cambios en la capacidad microbicida cuando los neutrófilos se incubaron con cada inhibidor en ausencia de Hsp72.

Conclusiones: Una correcta señalización celular a través de NF-κβ, ERK e IP3-K es necesaria para la estimulación de la capacidad microbicida de los neutrófilos inducida por concentraciones fisiológicas de Hsp72 liberadas en la sangre durante el ejercicio físico. PRI: 2PR04A076.

129P. PAPEL DE LOS RECEPTORES TIPO TOLL 2 (TLR2) Y DE LOS RECEPTORES ADRENÉRGICOS (RA) EN LA ESTIMULACIÓN DE LA CAPACIDAD FAGOCÍTICA Y MICROBICIDA DE NEUTRÓFILOS POR LAS PROTEÍNAS DE SHOCK TÉRMICO DE 72 KDA (HSP72) DURANTE UNA SESIÓN DE EJERCICIO INTENSO

Giraldo E, Ortega E

Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias. Universidad de Extremadura. Badajoz. España

Introducción: El ejercicio intenso se relaciona con episodios de inmunosupresión de la respuesta adquirida. Por ello una estimulación de la respuesta innata de los fagocitos sería crucial para prevenir la entrada de patógenos en estas situaciones. Los efectos del ejercicio sobre la respuesta inmunitaria están mediados por factores de estrés, entre los que se han descrito recientemente las proteínas de shock térmico de 72 kDa (HSP72). Estas proteínas pueden mediar la estimulación de la respuesta innata a través de su liberación a la sangre en situaciones de estrés, incluido el ejercicio físico. El objetivo de esta investigación es conocer el papel de los receptores toll de tipo 2 (TLR-2) y de los receptores adrenérgicos en esta estimulación.

Material y métodos: El ejercicio fue realizado por personas de vida sedentaria en un cicloergómetro durante 60 min. al 70% de la capacidad aeróbica máxima. Se estudió la capacidad fagocítica y microbicida de neutrófilos aislados frente a *C. albicans*. Se determinaron las concentraciones de HSP72 a través de ELISA. Se evaluó *in vitro* el efecto de la HSP72 (8,6 ng/ml) en presencia o ausencia de anti-TLR-2 (25 µg/ml), propranolol (10⁻⁵ M) o fentolamina (10⁻⁵ M) sobre las funciones evaluadas de los neutrófilos.

Resultados: Tras el ejercicio aumentó la capacidad fagocítica y microbicida de neutrófilos y la concentración en sangre de HSP72. La incubación de neutrófilos con la concentración fisiológica alcanzada en el ejercicio de HSP72 estimuló su ca-

pacidad fagocítica y microbicida. Esta estimulación desaparece, al menos parcialmente, en presencia de anti-TLR-2, propranolol o fentolamina.

Conclusiones: Una sesión puntual de ejercicio intenso estimula la capacidad fagocítica y microbicida de neutrófilos mediada al menos en parte por HSP72. En esta activación participan el receptor TLR-2 y los receptores alfa- y beta-adrenérgicos. PRI: 2PR04A076.

163. ADAPTACIÓN DE LOS MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN INTRAMONONUCLEARES TRAS UN PERIODO DE ENTRENAMIENTO EXCÉNTRICO EN LA POBLACIÓN MAYOR

Jiménez-Jiménez R, Cuevas MJ, De Souza-Teixeira F, Fernández Gonzalo R, Bresciani G, García-López D, de Paz Fernández JA, González-Gallego J.
Departamento de Ciencias Biomédicas. Universidad de León

Introducción: Es conocido desde hace tiempo, que el ejercicio físico conlleva efectos positivos sobre la salud de las personas mayores. Sin embargo, principalmente un ejercicio desacostumbrado y extenuante, puede traducirse en elevación de los niveles de citoquinas tales como la interleukina-6 (IL-6). También sabemos que el factor nuclear κB (NF-κB), responsable de la transcripción de proteínas relacionadas con el proceso inflamatorio, está expuesto a su activación durante el ejercicio excéntrico.

Objetivo: Investigar los efectos de un ejercicio excéntrico agudo sobre la respuesta inflamatoria en personas mayores y su adaptación con un entrenamiento excéntrico.

Material y métodos: 13 sujetos mayores de 65 años, todos ellos varones, participaron voluntariamente en el estudio realizando un entrenamiento excéntrico 2 días a la semana durante 8 semanas en una prensa inclinada de 45°. Una semana antes y una semana después del programa de entrenamiento, todos los sujetos realizaron una serie de ejercicio agudo excéntrico en la prensa inclinada. La activación NF-κB y la expresión génica de IL-6, iNOS y COX-2, fueron determinadas en células mononucleares periféricas antes, después y a las 3 h. de terminar el ejercicio agudo.

Resultados: Una única sesión de ejercicio excéntrico provocó un aumento significativo en la activación de NF-κB. La traslación de NF-κB al núcleo provocó un incremento en la expresión génica de enzimas tales como iNOS y COX-2. El nivel de mRNA y el contenido proteico de IL-6 también incrementó tras la realización de la primera serie de ejercicio excéntrico agudo. Tras el programa de entrenamiento, la serie de ejercicio agudo solo incrementó los niveles de mRNA de COX-2, los cuales fueron significativamente menores que los obtenidos en la primera serie.

Conclusiones: Los cambios producidos en la activación de NF-κB y en la expresión de genes relacionados en la respuesta inflamatoria tras un ejercicio agudo excéntrico son disminuidos significativamente tras 8 semanas de entrenamiento excéntrico.

172. IDENTIFICACIÓN DE 25 AMINOÁCIDOS EN EL SUDOR INDUCIDO POR EJERCICIO

Alvear-Ordenes I¹, Arenas R², Manjarrez-Montes de Oca R^{1,3}, Ribeiro DG¹, De Paz JA¹, González-Gallego J¹, Fresno JM².

¹Dpto. Ciencias Biomédicas, Univ. de León. ²Dpto. de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Univ. de León. ³Fac. de Medicina, Univ. Autónoma del Estado de México.

Introducción: El sudor en un ultrafiltrado del plasma y transfiere una representación de él hacia exterior durante el proceso

termorregulador. Entre esos productos el sudor elimina también aminoácidos (aa) que han sido analizados en estudios anteriores. Sin embargo, el número de aa que hasta ahora habían sido discriminados en el sudor, tanto en reposo como en ejercicio, no superaban los 16. El objetivo de este estudio fue, con un método más sensible, obtener una cuantificación más fiel del perfil aminoácido del sudor durante ejercicio.

Material y método: En el estudio participaron 14 jugadores universitarios de rugby (26,0±4,2 años; 87,8±3,8kg; 177,4±1,4cm; 15,8±1,7% de tejido graso) y el sudor fue inducido por ejercicio durante partidos oficial. Las muestras de sudor fueron recogidas desde la espalda por medio de láminas de látex con gasa estéril. El sudor fue separado de la gasa por centrifugación (3000 rpm) y ultracongelado (-80°C). Durante el análisis las muestras fueron descongeladas, centrifugadas a 1500 g x 15 min, a 4°C, y 400 µL de sobrenadante fueron secados con N₂. Las muestras fueron derivatizadas con fenilisotiocianato, mantenidas en oscuridad (20 min) y secadas nuevamente con N₂. Al liofilizado se le incorporó 1 mL de diluyente (fosfato ácido disódico/acetronitrilo), se filtró en un filtro de 0,22 µm (Millex®-GP) y se colocaron en el cromatógrafo (HPLC: Waters 2690, Separation Module; Waters 996, Photodiode Array Detector), utilizando una columna de fase reversa para análisis de aminoácidos (Ireland Waters), WAT010950, Tipo: PICOTAG® column, de 3,9 x 300 mm., mantenida a 50 °C (Spectra-Physics SP8792 controller) y con una precolumna Nova-Pak® C18 60Å 4 µm. Sentry™ Guard Columns., de 3,9 x 20 mm).

Resultados: Se identificaron los aminoácidos ya referidos en la literatura (Ser, Gly, His, Cit, Tau, Arg, Thr, Ala, Etn, Tyr, Val, Met, Cys, Ile, Leu, Phe, Trp, Orn, Lys). Se identificaron además seis (6) aminoácidos (Asp, Glu, Ans, Gln, GABA, Pro). Se confirman las bajas concentraciones de Tau, Met y Etn observadas por otros autores y se muestra la alta excreción de Pro, Ser y de Gly. Además, existen diferencias importantes entre el sudor de deportistas excretado durante ejercicio y en el reposo.

Conclusiones: La caracterización del perfil aminoácido en el sudor puede abrir un campo indeterminado de estudio, en el balance nitrogenado y en el control de la deshidratación y el diseño de bebidas deportivas, al poder responder, en parte, a las variaciones de aa observados en el plasma.

178P. EFECTO DEL EJERCICIO AGUDO INTENSO EN LOS NIVELES DE HOMOCISTEÍNA Y EN EL EQUILIBRIO TIOL REDOX

Cruz Iglesias E¹, Valcárcel Piedra G¹, Venta Obaya R¹, Terrados Cepeda N².

¹Servicio de Bioquímica, Hospital San Agustín, Avilés, Asturias.
²Fundación Deportiva Municipal, Avilés, Asturias.

Introducción: Los niveles elevados de homocisteína están asociados a eventos cardiovasculares y otras patologías. El ejercicio físico agudo produce un aumento del estrés oxidativo que puede implicar una alteración del equilibrio redox de la homocisteína, lo que podría explicar la hiperhomocisteinemia asociada.

El objetivo de este estudio ha sido evaluar el efecto del ejercicio físico intenso en los niveles plasmáticos de las formas moleculares de homocisteína, y su relación con la variación de las vitaminas metabólicamente relacionadas (B⁶, B¹² y folato) y de las vitaminas antioxidantes (C, A y E).

Material y métodos: Se estudiaron 14 piragüistas del Equipo Nacional Junior, que fueron sometidos a una prueba de esfuerzo máximo hasta la extenuación en un Kayak-ergómetro (Modest, Dinamarca). Se realizaron extracciones antes y 30±10 minutos después de la realización de la prueba, para la determinación de la homocisteína total (tHcy) y de las formas reducidas (rHcy), así como de las diferentes vitaminas.

Resultados: Para obviar fenómenos de hemoconcentración o hemodilución, las concentraciones obtenidas tras la realización de la prueba de esfuerzo fueron corregidas con el método de Dill y Costill. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

	Pre	Post	Significación
rHcy (µmol/L)	0,182 ± 0,013	0,197 ± 0,013	p<0,01
tHcyp (µmol/L)	6,97 ± 0,44	8,40 ± 0,45	p<0,001
rHcy/tHcy	0,028; 0,032	0,024; 0,028	p<0,01
Vitamina B6 (PLP, nmol/L)	81,5 ; 201,9	89,9 ; 223,6	p<0,05
Vitamina B12 (pg/mL)	463,7 ± 29,3	507,9 ± 28,2	p<0,001
Folato	6,8 ; 15,1	7,0 ; 11,5	ns
Vitamina C(ascórbico, mg/L)	5,99 ± 0,27	7,79 ± 0,80	p<0,05
Vitamina A (retinol, mg/L)	0,71 ± 0,05	0,81 ± 0,05	p<0,05
Vitamina E (tocoferol,mg/L)	10,41 ± 0,81	12,25 ± 0,64	p<0,01

178P. Tabla 1.

La variación en los niveles de tHcy únicamente demuestra una asociación negativa con los niveles basales de vitamina B₁₂ (r=-0,622, p<0,05).

Se evidencia así mismo una disminución significativa en los cocientes reducidas/totales de homocisteína.

Conclusiones: La realización de ejercicio físico agudo intenso produce una elevación de los niveles de rHcy y tHcy que parece ser independiente de la elevación en los niveles de vitaminas antioxidantes.

La elevación de tHcy se asocia con los niveles basales de vitamina B₁₂ lo que sugiere relación con la vía de la remetilación.

La disminución de los cocientes reducidas/totales de homocisteína refleja la alteración del equilibrio redox debida al ejercicio. El incremento en los niveles de vitaminas se podría atribuir a la movilización de reservas, necesarias por el aumento de los requerimientos metabólicos.

Es necesario estudios más completos que valoren la relación entre el ejercicio intenso y los niveles de homocisteína.