

Daño al ADN en Boxeadores y Remeros de élite cubanos

DNA damage in elite Cuban boxers and rowers

Caridad Luna Vázquez¹; Carmen Nortey Cruz²; Mario Granda Fraga³; Osvaldo García González⁴; Aída Leiva González⁵; Marisol Peña Sánchez⁶; Lourdes Cancino Badías⁷; Enrique Jaimovich Pérez⁸

^{1,2,3,4} Instituto de Medicina del Deporte avlopez43@inder.cu

^{5,6,7} Centro de Investigaciones Biomédicas

⁸ Profesor de la Universidad de Chile.

RESUMEN

Se realizó un estudio en deportistas élite cubanos, 11 remeros, 11 boxeadores y un grupo control de 20 hombres sanos; todos comprendidos entre 17-28 años. El estudio fue realizado durante el Período de Tránsito entre macrociclos de entrenamiento. Se determinó el daño al ADN inducido por estrés oxidativo a través del Ensayo Cometa y urea como indicador de volumen de carga física. Nuestro objetivo fue evaluar el daño producido al final del macrociclo de entrenamiento y su recuperación al final de la etapa de Tránsito. Se observó que ambos indicadores disminuyeron significativamente al final del Periodo de Tránsito tanto en boxeadores como remeros, al compararlos con el grupo control los valores fueron significativamente inferiores, al final de dicho periodo, para los boxeadores. Al parecer un Periodo de Tránsito de 4 semanas es suficiente para recuperar el daño al ADN producido durante un macrociclo de entrenamiento en Boxeadores y Remeros elite.

Palabras Claves: Daño ADN, ensayo cometa, estrés oxidativo, deportistas.

ABSTRACT

A study was realized in Cubans elites sportsmen, 11 rowers, 11 boxers and a control group compound for 20 healthy men; All of them from 17 to 28 years. The study was executed during the transit period between macrocycles of training. Was determined besides damages to the induced DNA by oxidative stress through the Comet testing and urea as indicator of volume of physical load. Our objective was to evaluate the damage produced at the end of the macrocycle of training and its recuperation at the end of transit stage. This test noticed that both indicators decreased significantly at the end of the transit period as well as boxers like rowers, in comparison with the control group, the values were significantly inferior, at the end of the aforementioned period, for boxers. Apparently a transit period of 4 weeks is enough for recovering the damage to DNA produced during a macrocycle of training in elite Boxers and rowers.

Key words: DNA damage, comet testing, oxidative stress, sportsmen.

INTRODUCCIÓN

Un hecho aceptado en la actualidad es que la realización de ejercicio físico, en el caso del deportista de alto nivel, genera una sobrecarga que puede traducirse en daño celular y alteraciones funcionales. La actividad física rigurosa puede incrementar el consumo de oxígeno en 10 a 15 veces por encima del valor de reposo, por cada 25 moléculas de oxígeno reducida por la citocromo oxidasa se produce un radical libre, lo que generaría una incrementada producción de especies reactivas del oxígeno, que pueden conducir al llamado estrés oxidativo (1, 2, 3, 4).

El incremento de la producción de los radicales libres durante el ejercicio puede constituir el efecto negativo del mismo, debido a la sensibilidad de moléculas como Ácidos Nucleicos, Proteínas y Lípidos a su acción. En el caso del ADN se plantea que los radicales libres modifican más de 10 000 pares de bases por células y es reconocida la existencia de enzimas removedoras y reparadoras de ADN capaces de eliminar las lesiones oxidativas en un elevado porcentaje. El ensayo cometa es un método gel-electroforético para determinar la rotura y los sitios álcali-labiles en el ADN de células simples que se producen por la acción oxidativa de las especies reactivas del oxígeno (3,6).

El estudio se realizó en la etapa conocida como Periodo de Tránsito, el mismo se caracteriza por un descanso activo entre macrociclos de entrenamiento, donde se deben producir cambios restauradores y regenerativos necesarios para el comienzo de una nueva etapa de preparación.

Para conocer el estado de los deportistas después de terminada la competencia utilizamos la urea como marcador bioquímico de volumen de las cargas, este marcador además nos ofrece importante información a cerca de la recuperación de los atletas en reposo por lo cual realizamos su determinación después de la competencia y al final del Periodo de Tránsito.

En nuestro trabajo nos propusimos valorar el comportamiento del daño al ADN a través del Ensayo Cometa en remeros y boxeadores elite comparados con un grupo control durante el Periodo de Tránsito.

MATERIAL Y MÉTODO

Fueron seleccionados 11 Remeros y 11 Boxeadores élite así como un grupo control de 20 hombres adultos sanos, con edades comprendidas entre los 17-28 años.

Las muestras se recogieron 5 minutos después de la competencia final del macrociclo y en reposo después de 12 horas de ayuno al final del Periodo de Tránsito que tubo una duración de 4 semanas.

La sangre total (recogida con EDTA) fue utilizada para la realización del ensayo "Cometa" que se determina mediante el método de electroforesis alcalina en agarosa de bajo punto de fusión (Unidades: porciento de ADN en la cola) que fue realizado en el Instituto de Medicina del Deporte con la colaboración del Centro de Investigaciones Biomédicas (CIBIOMED). Los leucocitos fueron suspendidos en un medio agarosa bajo, aplicado a una lamina portaobjeto, sumergida en una solución, y expuesta a álcalis (pH 13.0) para permitir al ADN irse desenrollando y expresando los sitios sensibles al medio básico. Después de la electroforesis, el ADN es teñido y finalmente es leído a través de un microscopio fluorescente (400x magnificación, con filtro de excitación de 450-490nm).

Se realizó la determinación de urea después la competencia clasificatoria del macrociclo y al finalizar el Período de Tránsito, utilizando el método enzimáticocolorimétrico de Berthelot, en el autoanalizador ELIMAT.

Para identificar diferencias significativas entre los grupos estudiados se utilizaron medidas de tendencia central como media, desviación estándar, la Prueba no Paramétrica para la comparación de K muestras independientes de Kruskal Wallis con un nivel de confiabilidad de un 95% ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al final de la competencia fundamental del macrociclo de entrenamiento los resultados de la urea registrados fueron de 9,2 mmol/L para los boxeadores y de 8,1 para los remeros, con una desviación estándar menor de 1 para ambos grupos, lo que evidencia que el volumen de la carga del ejercicio realizado se correspondió con las exigencias de la competencia.

Con relación al daño al ADN después de la competencia, encontramos que los valores de porciento de ADN oxidado en la cola del cometa son significativamente mayores en los deportistas que los encontrados en el grupo control; como se puede observar en la gráfica No. 1; con un promedio de 253,4 % para remeros, 229,3 % para boxeadores y 112,8 % para controles; lo cual confirma lo reportado en la literatura con relación al ejercicio físico intenso y la producción de daño a biomoléculas; por autores como Hartmann, quien también encontró daño usando el ensayo cometa y registrando la migración del ADN roto en leucocitos 24 horas después de un ejercicio anaeróbico intenso(6). Sen también encontró daño al ADN en leucocitos pero en contraste al estudio mencionado este se detectó inmediatamente después de un ejercicio

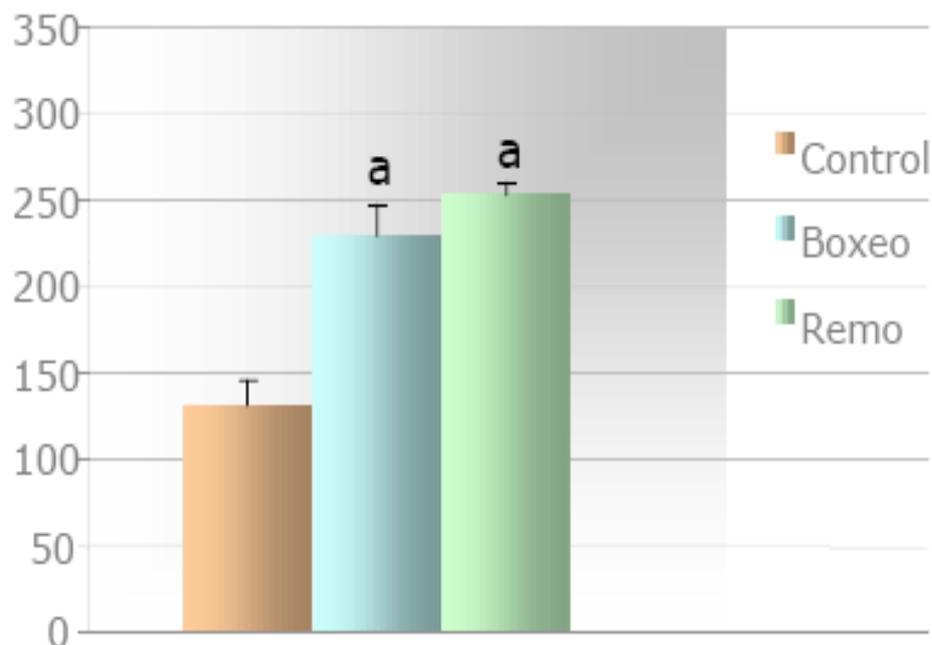
submáximo de 30 min usando el análisis fluorescente del ADN desenrollado (FADU)(6,7).

Estudios de Niess detectaron una ocurrencia paralela de rotura del ADN y oxidación de proteínas celulares en leucocitos después de una carrera de media maratón usando el método oxyblot, el cual puede ser tomado como una evidencia adicional de que el ejercicio induce un incremento de estrés oxidativo en células inmunocompetentes (7).

Otros estudios confirmaron estos efectos en la carrera de media maratón y competencia de triatlón, pero el alcance máximo en los últimos estudios fue a las 72 horas después del ejercicio (7, 8, 9,10).

En nuestro estudio como señalábamos anteriormente a pesar que no hubo diferencias significativas entre los deportes se pudo apreciar que el daño fue mayor para los remeros quienes practican un ejercicio predominantemente aeróbico que es mayor generador de daño que los deportes mixtos como es el caso del boxeo.

Grafico 1. Por ciento de ADN en la cola.



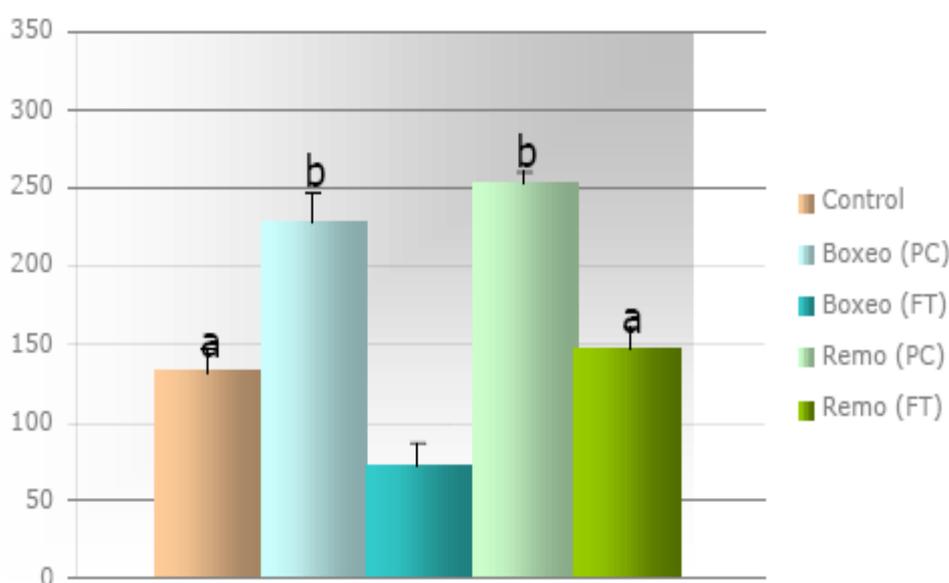
Al finalizar el Periodo de Tránsito encontramos valores de urea promedios de 3 mmol/L para los boxeadores y 5,3 mmol/L para los remeros sin diferencia significativa con el grupo control, lo cual indica un estado basal adecuado para el indicador.

En el caso de el Ensayo Cometa, los resultados no mostraron diferencias significativas entre deportistas y controles; los remeros con una media de 148,2 % y los boxeadores con un impresionante 75,3 % de daño, un resultado significativamente inferior al grupo control con 141,5 % que puede estar relacionado con la maestría deportiva alcanzada por este grupo elite, que les permite lograr una recuperación más satisfactoria que los remeros.

En literatura revisada con relación al tema se describe que los efectos sobre el ADN de los leucocitos totales observados en el ensayo cometa después de estrés intenso, no esta relacionado con la elevada frecuencia de micronúcleos en los linfocitos, ni los cambios ocurrentes en paralelo con los cromosomas, esto significa que existe una adecuada reparación de lesiones al ADN por las correspondientes endonucleasas aunque el impacto fisiológico y fisiopatológico de los efectos del ejercicio sobre el ADN en los leucocitos no esta claro aún (7). Sin embargo se reconoce en la actualidad por varios autores que las especies reactivas del oxigeno generadas con el ejercicio físico, como el peroxido, son capaces de inducir la síntesis de enzimas antioxidantes y reparadoras con lo cual se manifiestan los cambios adaptativos del organismo ante el ejercicio (5, 7, 11,12).

Al analizar nuestros resultados (Gráfico No. 2) podemos apreciar las diferencias significativas entre los grupos deportivos en los diferentes momentos, se evidencia el cambio que se produce en el estado oxidativo de las cadenas de ADN al comenzar el Periodo de Transito y al finalizar este, lo que podemos valorar como resultado de los cambios reparadores y regeneradores del daño al ADN producido durante este periodo que podríamos interpretar como consecuencia de la acción de endonucleasas o de enzimas antioxidantes y reparadoras, según lo reportado en la literatura.

Gráfico 2 Por ciento de ADN en la cola.



CONCLUSIONES

A pesar de que el ejercicio físico intenso genera un incremento de especies reactivas del oxígeno y con ello daño a biomoléculas como el ADN, también genera cambios adaptativos que aumentan la eficiencia de los sistemas reparadores lo cual puede interpretarse como un efecto beneficioso del ejercicio físico.

A medida que conozcamos más de este fenómeno se podrá aprovechar mejor los efectos positivos del ejercicio físico para la salud.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Singh VN. A current perspective on nutrition and exercise Nutr 1992; 122:760-5
2. Ascensao A, Magalhaes J, Soares J, Oliveira J, Duarte JA. Exercise and cardiac oxidative stress. Rev Port Cardiol. 2003 May; 22(5):651-78.
3. Palazzetti, S.; Richard, M-J.; and Margaritis, I. Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. Brish J. Nutr. (2004). 91: 91-100
4. Cazzola, R. et al. Biochemical assessment of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer player and sedentary controls. Eur J Clin Inv (2003) 33:924-930.
5. Banerjee AK, Mandal A, Chanda D, Chakraborti S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. Mol Cell Biochem. 2003 Nov; 253(1-2):307-1.
6. Hartmann, A. And A. M. Niess. DNA damage in exercise. In Exercise and Oxygen Toxicity, C.K. Sen, L. Packer, and O. Hanninen (Eds.) Amsterdam: Elsevier. (In press).
7. Niess, A.M., Dickhuth, H., Northoff H. And Fehrenbach, E. Free radicals and oxidative stress in exercise- Immunological aspects. Exercise Immunology Review. Vol.5:22-56© 1999 Human Kinetics Publishers,Inc.
8. Palazzetti S, Richard MJ, Favier A, Margaritis I. Overloaded training increases exercise-induced oxidative stress and damage. Can J Appl Physiol. 2003 Aug; 28(4):588-604.
9. Van Remmen H, Hamilton ML, Richardson A. Oxidative damage to DNA and aging. Exerc. Sport. Sci. Rev. 2003 Jul; 31(3):149-53.
10. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. Toxicology. 2003 Jul 15; 189(1-2):41-54.

11. López D. Norma et al. Daño al ADN y niveles de radicales libres en fibroblastos de ratones jóvenes y viejos Rev. Cubana Invest. Biomed 2003; 22(2):107-16.
12. Karolkiewicz J, et al. Oxidative stress and antioxidant defense system in healthy, elderly men: relationship to physical activity. Aging Male. 2003 Jun; 6(2):100-5.
13. Rush JW, Sandiford SD. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. Clin. Biochem. 2003 Jul; 36(5):345-51.
14. Antioxidantes, Radicales Libres y Ejercicio Revista Digital. Buenos Aires año 5 No. 23 Julio 2000.
15. Paredes. S. Fernando. Roca F. JJ. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. Offarm. 2002; 21(7):96-100.
16. Pérez P. Luis M. Estrés oxidativo: la paradoja del oxígeno Rev. Cubana Endocrinología. 2000; 11(3):139-42.
17. Martínez S. G. et al. Mitos y realidades de la terapia antioxidante. Centro de Química Farmacéutica. MINSAP. Impreso Combinado Poligráfico. Alejo Carpentier. La Habana.2003.
18. Campillo A. José E. Los Radicales Libres y el Ejercicio de Alta Intensidad. Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad de Extremadura - (Badajoz).2003.