

Efecto del ejercicio aeróbico sobre el perfil de expresión de proteínas en músculo de adolescentes con obesidad

Morena Azeneth Iglesias-Ángel (1), Victoriano Pérez-Vázquez (2)

1 [Programa de Médico Cirujano, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez] | Dirección de correo electrónico: [al116031@alumnos.uacj.mx]

2 [Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la salud, Campus León, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [vpvazquez@ugto.mx]

Resumen

Los beneficios del ejercicio han sido reconocidos desde hace muchos años sin embargo, los mecanismos moleculares por el cual ejercen beneficios en la salud siguen siendo difícil de alcanzar. La proteómica es una herramienta muy valiosa para aumentar la comprensión celular de los mecanismos moleculares que subyacen en el ejercicio aeróbico en adolescentes obesos. Las proteínas del músculo esquelético fueron separadas por 2D-PAGE, y los cambios en la expresión de las proteínas fueron revelados por ImageMaster2D Platinum. La proteómica diferencial reveló 9 proteínas con cambios de expresión diferencial, 7 sobre expresadas y 2 con menor expresión. En conclusión, nuestro análisis sugiere que el ejercicio aeróbico modifica el perfil de expresión de proteínas en músculo esquelético de adolescentes sedentarios con obesidad.

Abstract

Benefits of exercise have been recognized for many years, however, the molecular mechanisms by which they exert health benefits remain elusive. Proteomics is a valuable tool for increasing understanding of the molecular mechanisms that underlie aerobic exercise in obese adolescents. Skeletal muscle proteins were separated by 2D-PAGE and changes in protein expression were revealed by ImageMaster2D Platinum. The differential proteomics revealed 9 proteins with differential expression changes, 7 overexpressed and 2 with lower expression. In conclusion, our analysis suggests that aerobic exercise modifies the profile of protein expression in skeletal muscle of sedentary obese adolescents.

Palabras Clave

Proteómica, ejercicio aeróbico, músculo esquelético, obesidad.

INTRODUCCIÓN

En México como en el mundo la obesidad se ha convertido en un problema de salud pública, y su incidencia ha ido en aumento en los últimos años. Uno de los factores que condiciona la obesidad es la falta de actividad física. Durante el paso de los años y con los cambios del estilo de vida se ha observado una disminución en la actividad física y un incremento de la incidencia de obesidad. A menudo, los pacientes con obesidad han sido diagnosticados con inflexibilidad del músculo esquelético caracterizada por la toxicidad de los lípidos y una tendencia a desarrollar resistencia a la insulina y los cambios metabólicos que con ella se presentan. En la actualidad existe literatura que demuestra los beneficios del ejercicio sobre diferentes grupos de personas sanas, pacientes diabéticos y adolescentes obesos. Las mejoras metabólicas se explican en parte debido a los cambios en el sistema musculo esquelético. El musculo esquelético es un tejido importante metabólicamente hablando debido a que durante el ejercicio se metabolizan los carbohidratos y los lípidos en la mitocondria. Diferentes estudios han demostrado cambios bioquímicos después del ejercicio. Sin embargo, es necesario un estudio integrador de múltiples cambios de proteínas para aumentar la comprensión de las vías fisiológicas que mejoran el estado metabólico a través del ejercicio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Participantes

Participaron 4 adolescentes de sexo masculino de entre 15 y 18 años de edad con diagnóstico de obesidad de acuerdo a los criterios de la

International Obesity Task Force (IOTF). Los pacientes debían de realizar a la semana menos de 90 minutos de actividad física en el último año para ser incluidos en el estudio. Ninguno de los participantes presentaba signos, síntomas ni antecedentes de alteraciones o enfermedades musculares. Al inicio del estudio se les explico tanto a los participantes y a sus padres los objetivos y procedimientos que conllevaría la investigación; una vez que estuvieron de acuerdo procedieron a firmar una carta de consentimiento informado. Esta investigación fue aprobada por el Comité de Ética del departamento de Ciencias Médicas de la Universidad de Guanajuato.

La selección inicial se llevó a cabo por la historia clínica y la información sobre el estilo de vida, incluyendo el consumo de alimentos y hábitos de actividad física.

Siguiendo las guías para la detección de la hipertensión se midió la presión arterial por duplicado mediante el método de auscultación con un esfigmomanómetro de mercurio (Welch Allyn Tycos, EE.UU). Se obtuvieron muestras de sangre reposo de la vena antecubital. La sangre se extrajo después de aproximadamente 12 h de ayuno y se les solicitó a los pacientes que no realizaran ninguna actividad física moderada o intensa al menos 24 h antes de la prueba. Se determinaron los niveles de glucosa, insulina y perfil lipídico. Los niveles de glucosa fueron obtenidos mediante el método enzimático colorimétrico glucosa oxidasa, se obtuvieron los niveles de insulina utilizando radioinmunoensayo y finalmente el perfil lipídico fue obtenido mediante el método enzimático colorimétrico (SPINREACT, España).

Posteriormente los participantes fueron medidos por un antropometrista certificado siguiendo el protocolo de La Sociedad Internacional para el Avance de la Cineantropometría (ISAK). La suma de 3 pliegues cutáneos (pecho, abdomen y muslo)

fue utilizada para calcular el porcentaje de grasa corporal según Jackson y Pollock. Se obtuvo un electrocardiograma de 12 derivaciones en reposo (Burkick Ek 10 Milton WI, EE.UU) para descartar alteraciones cardíacas que contraindicaran el ejercicio. Los participantes realizaron una prueba de ejercicio máximo incremental en banda sin fin (Track Master Research, Eastlake, OH, EE.UU.) para obtener su FC_{máx} y calcular el VO₂pico. Brevemente, después de un calentamiento de 3 minutos a 2.8 millas por hora (mph) con una inclinación del 0%, la prueba de ejercicio fue realizada según el protocolo de Balke (3.4 mph + 1% de elevación a la banda cada min). Durante la prueba, la frecuencia cardíaca (FC) fue registrada continuamente con un monitor de FC portátil (Polar RS400SD, Kempele, Finlandia). El esfuerzo máximo se logró cuando los sujetos alcanzaron una tasa de esfuerzo percibido > 17 o una FC de 190-210 latidos por minuto.

El VO₂pico fue calculado usando la siguiente ecuación:

$$\text{VO}_2\text{pico (ml/kg*min)} = 0.2 (\text{velocidad}) + 0.9 (\text{velocidad}) (\% \text{ inclinación}) + 3.515.$$

La intensidad de la prueba fue prescrita de acuerdo a la FC_{máx} y al VO₂pico.

Toma de biopsia de músculo esquelético.

Antes y después del entrenamiento aeróbico se obtuvieron biopsias con aguja percutánea de aproximadamente 200 mg del músculo vasto lateral derecho bajo anestesia local.

Las muestras obtenidas fueron lavadas con buffer (20 mM Tris/ HCl pH7.8, 10 mM EDTA, 2 mM DTT e inhibidor de proteasa) y almacenadas a -70^oC para su análisis posterior.

Intervención

Durante 12 semanas los participantes realizaron ejercicio aeróbico 50 min/día 3 días a la semana usando un cicloergómetro (Monark 839E) o una banda sin fin (Track Master Research St. Paul Mn EE.UU) a una intensidad de 70 a 80 % de la FC_{máx}. La FC de los pacientes fue verificada cada minuto con un monitor de frecuencia cardíaca portátil (Polar RS400SD, Kempele, Finlandia) bajo la supervisión de personal experimentado. Las cargas de trabajo se incrementaron según fue necesario para mantener la intensidad del ejercicio prescrito a través del estudio.

Perfil proteómico

Las muestras de músculo se suspendieron en un buffer de lisis (7,0 M de urea, tiourea 2,0 M, 4% (w/v) CHAPS, DTT 100 mM y 30 mM Tris Base, además de inhibidor de proteasa) y se homogeneizaron usando el Sample Grinding Kit (GE, Healthcare). La cuantificación se llevó a cabo por 2D-Quant Kit (GE, Healthcare). Se usaron tiras pH IPG 3-10 NL de 24 cm (GE, Healthcare) y se rehidrataron durante 12 horas, a temperatura ambiente. La primera dimensión se llevó a cabo utilizando una unidad Ettan IPGphor 3 (GE Healthcare) en cuatro etapas hasta 40 000 V. Después de la primera dimensión se hidrataron tiras durante 13 min en buffer de equilibrio, primero con DTT y luego con yodoacetamida. En la segunda dimensión se realizó la separación de proteínas por peso molecular en geles de poliacrilamida al 12.5%, utilizando la cámara de electroforesis (GE, Healthcare).

Los geles se corrieron a 160 V. Las proteínas se visualizaron por la tinción azul de coomassie, para luego digitalizar los geles en el ImageScanner III. Las imágenes se analizaron y compararon mediante el software ImageMaster 2D Platinum ver 7.0 (GE Healthcare).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinaron las características antropométricas y metabólicas de los participantes. (tabla 1).

Dentro del análisis proteómico se resolvieron 70 spots, de los cuales 9 spots presentaron cambios de expresión de al menos el doble. De estos cambios significativos 7 spots aumentaron y 2 spots disminuyeron. (Imagen 1).

El hallazgo de este estudio fue la expresión diferencial de 9 proteínas, sugiriendo que intervienen en metabolismo aeróbico y vías de anaeróbicas en el músculo vasto lateral de adolescentes obesos después de 12 semanas de entrenamiento aeróbico y un control en la dieta.

CONCLUSIONES

Los hallazgos proteómicos sugieren que los adolescentes obesos cambian su fenotipo, IMC, circunferencia de cintura, insulina, niveles de glucosa sérica después del entrenamiento aeróbico a través de un patrón mejorado de expresión de proteínas que probablemente intervienen en el metabolismo de la glucosa y aumentan la fosforilación oxidativa.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Dr. Victoriano Pérez Vázquez por su asesoría y coordinación del proyecto. A mis compañeros Gabriela Ruiz Zavala, Gerardo Silva

Gaona y Judith Ulloa Calzonzin por su cooperación e indispensable apoyo en la presente investigación. Y al Departamento de Ciencias Médicas y la División de Ciencias de la Salud de la Universidad de Guanajuato, Campus León por

permitirme hacer uso de las instalaciones y por el financiamiento del proyecto.

REFERENCIAS

- Macias-Cervantes, M.H., Guzman-Flores, J.M., Vargas-Ortiz, K., Diaz-Cisneros, F.J., Ramirez-Emiliano J and Perez-Vazquez, V. (2014). Effect of Aerobic Exercise on Protein Expression in Muscle of Obese Mexican Adolescents: A Proteomic and Bioinformatic Analysis. *Natural Science*. 6(9):641-50. <http://dx.doi.org/10.4236/ns.2014.69063>
- Weinstein, A.R., Sesso, H.D., Lee, I.M., Cook, N.R., Manson, J.E., Buring, J.E. and Gaziano, J.M. (2004) Relationship of Physical Activity vs Body Mass Index with Type 2 Diabetes in Women. *The Journal of the American Medical Association*, 292, 1188-1194. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.292.10.1188>.
- Macias-Cervantes, M.H., Malacara, J.M., Garay-Sevilla, M.E. and Diaz-Cisneros, F.J. (2009) Effect of Recreational Physical Activity on Insulin Levels in Mexican/Hispanic Children. *European Journal of Pediatrics*, 168, 1195-1202.

Tabla1. Características antropométricas y metabólicas antes y después del entrenamiento.

Características de los pacientes	Antes del entrenamiento	Después del entrenamiento
1. Edad (años)	16.1 (15-17.5)	16.3 (15-18)
2. Peso (kg)	98.6 (82.7-130.4)	94.4 (79.2-129.3)
3. IMC (kg/m ²)	33.8 (28.8-42.1)	32.4 (27.1-41.7)
4. Circunferencia de cintura (cm)	111.5 (100-131)	103.3 (90.4-127.5)
5. Grasa corporal (%)	25.9(20.1-36.2)	25.0(13.4-31.0)
6. Glucosa (mg/dl)	101(89-107)	82.4(76.3-88.5)
7. Colesterol Total (mg/dl)	152(120-185)	138(109-171)
8. HDL (mg/dl)	36.7(29.4-46.7)	32.4(28.4-41.6)
9. LDL (mg/dl)	78(46.5-119.5)	87(61.4-115.2)
10. Insulina (microUI/dl)	59.8 (46.3-67.6)	33.6(15.2-73)

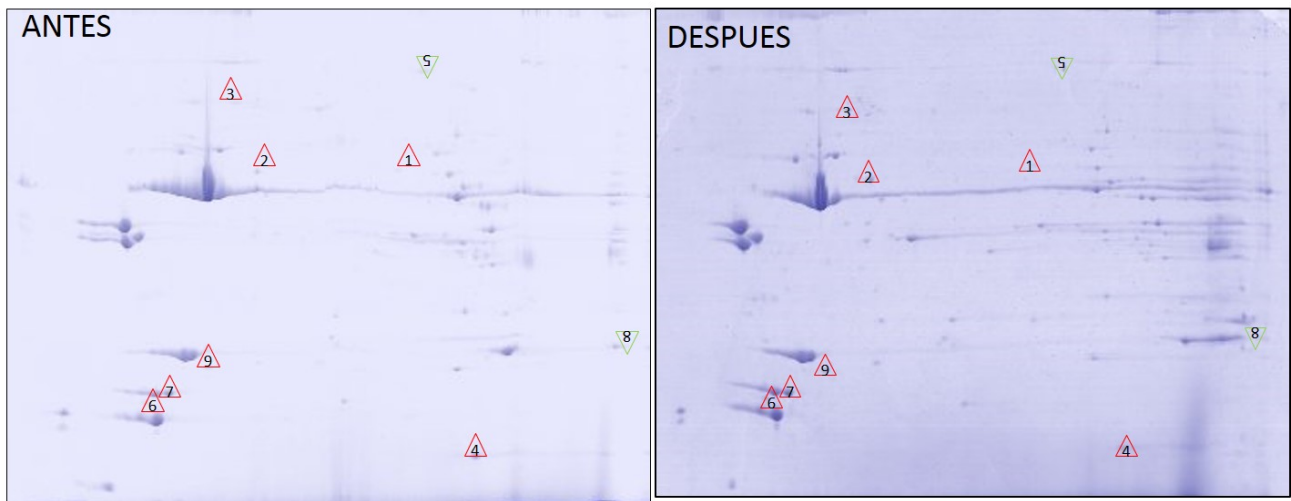


IMAGEN 1: Cambios de expresión de proteínas de adolescentes obesos.



Proteínas que incrementan.



Proteínas que disminuyen.