



UNIVERSIDAD FINIS TERRAE
FACULTAD DE MEDICINA
ESCUELA DE KINESIOLOGÍA

**EFFECTOS DEL ENTRENAMIENTO AERÓBICO SOBRE LA VÍA DE
SEÑALIZACIÓN DEL RECEPTOR TOLL-LIKE 4 EN EL MÚSCULO
ESQUELÉTICO DE SUJETOS NORMOPESO Y OBESOS.
CONSECUENCIAS EN LA INFLAMACIÓN E INSULINO RESISTENCIA**

DANIELA VICTORIA ÁVALOS ALLEL

Tesis para ser presentada en la Escuela de Kinesiología para optar al título de
Kinesiólogo

Profesor guía: Hermann Zbinden- Fonca. PhD.

Santiago, Chile

2017

i

DEDICATORIA

Es para mí un honor, dedicar la totalidad de este proyecto a mis padres, quienes han dedicado sus últimos 23 años de vida, a mi felicidad, educación y crecimiento como persona.

Por los esfuerzos realizados, para entregarme, desde un hogar cariñoso y estimulante, a una buena calidad escolar primaria, secundaria y universitaria, hasta la preocupación por proporcionar una correcta alimentación y desarrollo de mis habilidades físicas.

Por su amor y apoyo incondicional, por darme las herramientas para emprender mi propio camino y por siempre ser la voz de la experiencia en mi vida, este proyecto es para ustedes.

Es importante también, destacar a mi querido hermano, que siempre se ha encargado de enseñarme un simple y gran mensaje, “haz lo que te haga feliz”, y es exactamente lo que este proyecto simboliza, el culmine y el inicio de un camino de vocación y felicidad, que elegí y me eligió.

Con mucho cariño, para Norma Ligia Allel López y Pedro Enrique Ávalos Daza, mis padres y Cristián Ávalos Mena.

AGRADECIMIENTOS

Para iniciar los agradecimientos de este proyecto, es debido comenzar por el financiamiento, el cual fue otorgado a raíz del FONDECYT del Dr. Hermann Zbinden PhD en 2016 con N°11150576. Anexo 1.

Corresponde y es un placer para mi agradecer a todos los profesionales que han contribuido con su tiempo y conocimiento a la evaluación y análisis de las distintas pruebas realizadas a los sujetos de estudio, comenzando con el Dr. Hugo Marambio, MD; Isabel Rada, Msc, Francisco Diaz Castro, PF; Klga, Msc; RoseMery Arenas, Klga.; Karen Mackay, Nta, Msc; Dr. Ariel Contreras PhD y en especial al Dr. Hermann Zbinden, quien dirigió esta investigación durante todo el proceso con dedicación y responsabilidad.

Es de especial interés agradecer además a todos los sujetos que libremente decidieron formar parte de esta investigación y se comprometieron por más de 3 meses a evaluaciones y entrenamientos, dedicando tiempo y responsabilidad para el correcto desarrollo del trabajo.

Y sin más que agregar, finalizo por darle las gracias a la Escuela de Kinesiología de la Universidad Finis Terrae, que, con lo entregado durante los 5 años de carrera, tanto humanamente como intelectualmente hablando he podido finalizar este proyecto con orgullo.

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN

Mediante el presente documento, el profesor guía certifica y autoriza que la presente tesis, es copia fiel de la original y está apta para ser presentada ante la Escuela de Kinesiología para optar al título de Kinesiólogo.

NOMBRE Y FIRMA PROFESOR GUÍA

FECHA

NOMBRE Y FIRMA ALUMNO TESISTA

FECHA

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen	
Abstract	
Glosario y abreviaturas	
Introducción	pág. 1
Capítulo 1: Marco Teórico	pág. 4
Capítulo 2: Materiales y Método	pág. 9
Capítulo 3: Resultados	pág. 19
Capítulo 4: Discusión	pág. 25
Conclusiones	pág. 29
Bibliografía	pág. 30
Anexos:	
• Anexo 1: Carta Comité de Ética	
• Anexo 2: Información al paciente y consentimiento Informado	
• Anexo 3: Ficha presentación de paciente	
• Anexo 4: PAR-Q	
• Anexo 5: Astrand Dama	
• Anexo 6: Astrand Varón	
• Anexo 7: Planilla de entrenamiento	
• Anexo 8: Protocolo de seguridad	

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES Y TABLAS

Tabla N°1	pág. 14
Tabla N°2	pág. 15
Tabla N°3	pág. 17
Figura N°1	pág. 18
Tabla N°4	pág. 21
Figura N°2	pág. 24

Resumen

Introducción: Según el Ministerio de Salud de Chile, un 88.6% de la población se considera inactiva y un 25,1% se encuentra en condiciones de obesidad, (IMC>30). El sedentarismo y obesidad son predisponentes de otras enfermedades crónicas no transmisibles como hipertensión, diabetes tipo 2 y dislipidemias. Los sujetos con obesidad se caracterizan por padecer inflamación baja crónica, provocando insulino resistencia (RI). A consecuencia de esta inflamación generalizada basal, citoquinas producidas por el tejido adiposo (TA) en exceso son capaces de estimular al receptor Toll-like (TLR) e inducir resistencia a la insulina. **Objetivo:** Determinar efectividad de un programa de 12 semanas de ejercicio aeróbico en la expresión de TLR4, inflamación crónica y sensibilidad a la insulina en personas obesas. **Materiales y métodos:** La muestra fue constituida por 6 hombres-8 mujeres de 40-60 años, divididos en 2 grupos (normopeso & obesos) de igual número. Los sujetos fueron sometidos a evaluaciones previas y posterior al entrenamiento: perfil lipídico, hemograma, HOMA, niveles de glucosa e insulina sanguínea en ayuno, biopsia muscular (niveles de Akt, P38, ERK, JNK y TLR4) y un test de esfuerzo máximo en cicloergómetro para determinar VO₂max. Recolectada toda la información se dio inicio al entrenamiento, con una duración de 3 meses (36 sesiones, 3/semana, 50min/sesión, Intensidad 65-75%Vo₂max). **Resultados:** Los valores HOMA en normopesos disminuyeron de $2,1 \pm 0,7$ a $1,5 \pm 0,4$ ($P<0,05$), y en obesos de $7,8 \pm 2,6$ a $5,8 \pm 2,3$ ($P<0,01$). Niveles de colesterol total disminuyeron de $222,6 \pm 46,7$ mg/dL a $203,6 \pm 41,6$ mg/dL ($P<0,05$) en obesos y en normopesos de $178,8 \pm 32,5$ mg/dL a $167,8 \pm 5$ mg/dL ($P < 0,01$). Sólo valores moleculares de P38 alcanzaron un aumento significativo en ambos grupos ($P<0,05$), sin cambios significativos para TLR, JNK, ERK ni Akt. **Conclusiones:** El ejercicio aeróbico en cicloergómetro de miembro inferior al 65-75% del VO₂max de cada sujeto, implementado de manera crónica (igual o mayor a 3 meses), es capaz de producir una disminución en la resistencia a la insulina en sujetos obesos acompañado de una disminución del contenido lipídico total y posiblemente una disminución de proteínas asociadas a la inflamación, sin modificar niveles de TLR4.

Palabras Clave: Inflamación baja crónica, ejercicio aeróbico, insulino resistencia.

Abstract

Introduction: According to the Chilean Ministry of Health an 88.6% of the population may consider themselves physically inactive, and a 25.1% is obese (BMI>30). Sedentarism and obesity are predisposing factors to other chronic non-communicable diseases such as high blood pressure (HBP), type 2 diabetes mellitus (T2DM) and dyslipidemia. People with obesity characterize for having a chronic low inflammation, leading to insulin resistance (IR). Due to this chronic generalized inflammation, cytokines produced in excess by the adipose tissue are capable of stimulating Toll-Like receptors and induce insulin resistance.

Objective: To determine the efficacy of a 12-week aerobic exercise program on TLR4 expression levels, chronic low inflammation and insulin resistance in obese subjects.

Materials and method: The sample was constituted of 6 men and 8 women between 40-60 years old and was divided in 2 groups (lean & obese) of equal number each. Participants were subjected to a previous and posterior evaluation of their lipid profile, hemogram, blood insulin and blood glucose levels, muscular biopsy (to determine Akt, P38, ERK, JNK and TLR4 expression) and a maximum rate of oxygen consumption test in static up-right leg bicycle to determine VO_2 max. Once collected all data mentioned above, all subjects completed a 3-month aerobic training program (3 times/week, 50min/session).

Results: HOMA levels descended from $2,1 \pm 0,7$ a $1,5 \pm 0,4$ ($P<0,05$) y lean group, and from de $7,8 \pm 2,6$ a $5,8 \pm 2,3$ ($P<0,01$) in obese. Total cholesterol levels descended from de $222,6 \pm 46,7$ mg/dL a $203,6 \pm 41,6$ mg/dL ($P<0.05$ in obese, and from $178,8 \pm 32,5$ mg/dL a $167,8 \pm 5$ mg/dL ($P < 0.01$) in lean group. Only P38 expression levels showed significant changes, in both groups ($p<0,05$). There were no statistical changes in TLR4, JNK, ERK or Akt levels.

Conclusions: Chronic aerobic exercise in leg bicycle to 65-75% VO_2 max of each subject (equal or more than 3-moths), is capable to produce a reduction of insulin resistance levels in obese subjects, accompanied of a reduction of total cholesterol levels and possibly a reduction in inflammation associated proteins.

Key Words: Chronic low inflammation, aerobic exercise, TLR4, insulin resistance.

Glosario y abreviaturas

Akt: Familia de proteínas quinasas B.

AS160: Proteína 160 kDA

DM2: Diabetes Mellitus tipo 2

DLP: Dislipidemias

GAA: Glucosa alterada en ayuno

GLUT4: Transportador de glucosa tipo 4

HTA: Hipertensión arterial

IGA: Intolerante a la glucosa oral

IL-1: Interleukina 1

IL-6: Interleukina 6 IR: Resistencia a la insulina/insulino resistencia

IMC: Índice de masa corporal

IRS: *Insulin receptor substrate*

MAPK: *Mitogen-Activated Protein Kinase*

MINSAL: Ministerio de Salud de Chile

MMII: Miembro inferior

NEFA: Ácidos grasos no esterificados

NF- κ B: Factor nuclear potenciador de cadenas ligeras kappa de células B activadas

OMS: Organización Mundial de la Salud

PAR-Q: *Physical Activity Readiness Questionnaire*

PDK1: Piruvato deshidrogenasa quinasa lipoamida isoenzima 1

PI3kinasa: Fosfoinositol 3 kinasa

PkB: Proteína kinasa B

PRE-T: Previo al entrenamiento

POST-T: Posterior al entrenamiento

TA: Tejido adiposo

TBST: *tris-buffered saline and Polysorbate 20*

TNF- α : Factor de necrosis tumoral alfa

TLR4: *Toll-Like Receptor type 4*

VO₂max: Consumo de oxígeno máximo

Introducción

La tecnología y su impacto a nivel cultural han contribuido a la promoción de hábitos y estilos de vida sedentarios, los cuales han sido adoptados por la mayoría de los individuos de nuestra sociedad moderna. Esto, sumado a dietas excesivamente ricas en lípidos y carbohidratos, llevan a la acumulación de calorías en la forma de grasa corporal (Pescatello & VanHeest, 2000).

Chile no es la excepción, acorde a los datos del Ministerio de Salud de nuestro país en su encuesta nacional de salud, (Minsal 2009-2010) el 88.6% de la población se considera inactiva (<150min/sem de actividad física regular) y un 25,1% se encuentra en condiciones de obesidad, es decir, IMC >30 Kg/m².

El sedentarismo y la obesidad han sido categorizadas como parte de una epidemia de enfermedades no transmisibles, así como también, precursoras de otras enfermedades de tipo crónicas no transmisibles, tales como la hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y dislipidemia (DLP). (Nguyen & El-Serag, 2010).

Esto es altamente relevante ya que la Organización Mundial de la Salud (OMS) califica a la inactividad física como el 4to factor de riesgo más importante de mortalidad a nivel mundial, produciendo el 6% de las muertes. Esta cifra sólo es superada por la HTA (13%), consumo de tabaco (9%) y está a la par con la hiperglicemia con un 6%. Además, la inactividad física es la causa principal del 27% de los casos conocidos de DM2 (OMS, 2014).

En consecuencia de la creciente tasa de sedentarismo y obesidad, el número de personas con DM2 va en aumento también. (Qatanani & Lazar, 2007). Esto puede explicarse entendiendo que sujetos obesos podrían generar resistencia a las acciones de la insulina, caracterizado por un déficit en su

capacidad para inhibir la liberación de glucosa desde el hígado e inhibir también su captación a nivel muscular y adiposo (Qatanani & Lazar, 2007).

Por otra parte, el ejercicio físico a intensidades moderadas (50-75% VO₂max) ha sido ampliamente asociado a una disminución de la resistencia a la insulina, tanto en pacientes con DM2, como pacientes insulino resistentes. (Mayer-Davis, 1998. Houmard et al, 2003). Lo anterior debido a la capacidad de aumentar la sensibilidad a la insulina por parte de los tejidos, primordialmente musculares. Si bien la evidencia es positiva y clara, los mecanismos por los cuales se produce este efecto aún faltan por describirse en totalidad (Mayer-Davis, 1998. Houmard et al, 2003).

Relevancia del estudio

Actualmente se conoce que los factores influyentes sobre la resistencia a la insulina son múltiples, pero se desconoce el origen de todos éstos. Existen 2 corrientes principales, la primera explica que el aumento de ácidos grasos plasmáticos lleva a la acumulación de ceramidas y diacilglicerol, y la segunda es que la inflamación crónica baja, a la cual están sometidos los organismos de estos individuos, sería la causal de la resistencia a la insulina y con el tiempo el desarrollo de DM2.

La relevancia de éste proyecto radica en el objetivo de lograr a través del ejercicio físico aeróbico al 65-75% del Vo₂max la disminución de la inflamación crónica baja y, en consecuencia, lograr una disminución de la insulino resistencia en sujetos obesos. El efecto terapéutico del ejercicio físico es conocido y ha sido ampliamente estudiado. Nuestra investigación se centra en identificar los mecanismos involucrados para mejor conocer la fisiopatología de la enfermedad y las consecuencias de una actividad física de carácter regular. Al identificar los mecanismos, podremos estandarizar protocolos de ejercicio de carácter terapéutico para un mejor manejo de la enfermedad.

Por lo tanto, entendiendo el impacto que tienen las enfermedades crónicas no transmisibles en la actualidad en nuestro país sobre los sistemas de salud y calidad de vida de la población, se ha desarrollado la línea de investigación en salud y ejercicio en nuestra Escuela de Kinesiología. Nuestro compromiso y motivación en la búsqueda constante de nuevos conocimientos que mejoren la calidad de vida y salud de nuestros pacientes, constituyen un elemento motivacional para el desarrollo de esta investigación.

Capítulo 1. Marco Teórico

La DM2 tiene como característica principal la incapacidad de mantener un estado euglicémico durante las distintas actividades de la vida diaria, llevando al sujeto a una hiperglicemia (Bird & Hawley, 2012), la cual, de mantenerse en el tiempo, se traduce en consecuencias de origen tóxico para una gran variedad de tejidos. (Schalkwijk & Stehouwer, 2005). Es por esto, que la resistencia a la insulina (RI) es un factor precursor clave en el desarrollo posterior de la enfermedad.

Más específicamente, a nivel del músculo esquelético, la insulina se encarga de estimular la captación de glucosa, a través de la correcta translocación del transportador GLUT4 a la membrana plasmática. La insulina inicia una cascada de reacciones de señalización en el músculo esquelético al vincularse brevemente a sus receptores (sustrato del receptor de insulina: IRS), permitiendo la estimulación de éstos. En consecuencia a la estimulación de los IRS, ocurre la activación de algunas proteínas kinasas (PI3Kinasa, PDK1 y Akt). Una vez que Akt es activada se desplaza a la membrana plasmática y activa el sustrato Akt de 160 kDa (AS160). Así, AS160 inicia el proceso de translocación de GLUT4 hacia la membrana plasmática. Finalmente, una vez que GLUT4 se encuentra en la membrana, la glucosa puede entrar al músculo esquelético, donde puede ser oxidada a través del proceso de glucólisis (Hawley, Hargreaves, & Zierath, 2006), disminuyendo los niveles de glucosa en la sangre. Sin embargo, en personas con RI, la captación de glucosa, principalmente en el músculo esquelético está disminuida, provocando una hiperglicemia crónica (Abdul-Ghani & DeFronzo, 2010).

Está debidamente documentado que la mayoría de las personas obesas padecen de RI (Neeland et al., 2012). Por lo tanto, la evidencia indica que la obesidad y la RI se asocian con un mayor riesgo de padecer DM2, es por esto, que un enfoque de tratamiento que aborde aquellos dos factores podría llevar a la

prevención efectiva de DM2 (Fox et al., 2006; Mokdad et al., 2003; Resnick, Valsania, Halter, & Lin, 2000).

Los sujetos con obesidad se caracterizan por padecer un proceso de expansión patológica del tejido adiposo (TA) (Ringeis, Eder, Mooren, & Kruger, 2015), este tejido es capaz de secretar importantes cantidades de ácidos grasos no esterificados (NEFA), glicerol, hormonas y citoquinas pro-inflamatorias, entre otros factores capaces de aumentar la RI. Se cree que la secreción de NEFAs puede ser el factor con mayor contribución al desarrollo de DM2. (Kahn, Hull, & Utzschneider, 2006).

Estudios recientes indican que el efecto negativo de los NEFA sobre la acción de la insulina es causado, por la estimulación directa de receptores que se encuentran en la membrana plasmática muscular, llamados Toll-Like Receptor (TLR) (Reyna et al., 2008) (Jialal, Kaur, & Devaraj, 2014). Los TLRs son glucoproteínas que se expresan principalmente en células del sistema inmune innato, incluyendo macrófagos, células dendríticas, células B, y tipos específicos de células T, aunque también se pueden expresar en células no inmunes. Por ejemplo, TLR4 se expresa en los adipocitos, hepatocitos y miocitos (Akira, 2006).

Los TRLs han estado involucrados en la desregulación metabólica inducida por los ácidos grasos en el músculo esquelético. El mecanismo de acción se inicia cuando los TLRs son activados por los NEFA, desencadenando entonces una cascada de señalización, que favorece la activación del factor nuclear kappa B (NF-kB) y de las proteínas MAPK (mitogen-activated protein kinase). NF-kB regula la transcripción de citoquinas inflamatorias, tales como, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 (IL-1), entre otros (Carmody & Chen, 2007). Estas citoquinas inflamatorias son capaces de desencadenar efectos negativos en la traducción de señales de la insulina. Por ejemplo, TNF- α ; produce resistencia a la insulina al provocar una inhibición de IRS a través de la activación de la kinasa N-terminal de c-Jun (JNK) (Fernandez-

Veledo, 2009; Torres-Leal, 2010) y la proteína kinasa IKK- (Gao, 2002)., IL-6 también puede inhibir la fosforilación de IRS (Torres-Leal et al., 2010) desarrollándose una RI. Por su parte, la activación crónica de las proteínas MAPK también han sido asociadas a un aumento en la resistencia en la insulina (Kramer & Goodyear, 2007).

En este momento, en la bibliografía existe tan solo un estudio en el cual se muestra que sujetos obesos con DM2 poseen altos niveles de TLR4 en la membrana sarcoplasmática. (Reyna et al., 2008). Sus autores especularon una directa relación entre la RI y la actividad de NF-kB. Otros estudios muestran que la ausencia de TLR4 en ratones, es capaz de provocar un efecto protector contra la RI y la obesidad (Himes & Smith, 2010; Tsukumo et al., 2007). Todo esto ha generado gran interés por los TLRs como objetivo a tratar durante un tratamiento para obesidad.

Actualmente existen algunos resultados positivos sobre estudios que indican que el ejercicio físico es capaz de provocar un efecto anti-inflamatorio y de esta forma actuar contra estas citoquinas inflamatorias. En una revisión (Lancaster & Febbraio, 2014) los autores especulan que el ejercicio es capaz de aumentar la utilización de ácidos grasos en el músculo esquelético y así disminuir el contenido lipídico. Esto podría disminuir el reclutamiento de células inmunes en el músculo e inhibir vías pro-inflamatorias como la de JNK. Además, otro estudio sugiere que la RI y sus efectos pueden evitarse con la disminución de ácidos grasos y/o de TLRs sarcoplasmáticos. (Hussey et al., 2013). De esta forma disminuyendo la inflamación crónica que poseen pacientes con RI o DM2.

Aún no existen investigaciones realizadas en el tejido muscular humano que muestren una relación del ejercicio crónico y la expresión de TLR. Además, la mayoría de las investigaciones se han realizado en muestras sanguíneas (Lancaster & Febbraio, 2014) y no directamente en el músculo esquelético que es realmente el lugar donde ocurre la mayor captación de glucosa estimulada por

insulina. Por otro lado, son necesarios estudios que establezcan el mejor protocolo de ejercicio (tipo, intensidad y duración) para prevenir y tratar la obesidad y sus co-morbilidades de forma más eficiente.

El propósito del presente proyecto es determinar la expresión de TLR4 en el músculo esquelético de personas con obesidad versus normopeso antes y después de ser sometidas a un protocolo de entrenamiento aeróbico.

Por lo tanto, como pregunta científica nos planteamos; ¿Será capaz un programa de entrenamiento aeróbico de 12 semanas de duración, de modificar la expresión sarcoplasmática en el musculoesquelético de TLR4 en sujetos obesos de entre 40 y 60 años?

Objetivo General

Determinar la efectividad de un programa de ejercicio aeróbico en la vía de señalización del receptor Toll-like 4, la inflamación crónica y sensibilidad a la insulina en el músculo esquelético de personas con obesidad.

Objetivos Específicos

- Determinar la efectividad de un programa de ejercicio aeróbico en la inhibición de la vía del receptor TLR4 en el músculo esquelético.
- Evaluar los niveles de NF-kappa B, MAPK y PKB en el músculo esquelético, previo y posterior al programa de ejercicio aeróbico.
- Evaluar la resistencia a la insulina en el músculo esquelético previo y posterior al programa de ejercicio aeróbico., mediante parámetros sanguíneos.
- Evaluar nivel y distribución lipídica antes y después del programa de ejercicio aeróbico, mediante perfil lipídico.

Hipótesis Científica

El entrenamiento físico aeróbico produce una disminución de la inflamación crónica y una mejora de la sensibilidad a la insulina, debido a la disminución de la expresión de TLR4 en sujetos obesos.

Hipótesis Nula

El entrenamiento físico aeróbico no produce disminución de la inflamación crónica y no mejora la sensibilidad a la insulina, debido a que permanece aumentada la expresión de TLR4 en sujetos obesos.

Capítulo 2: Materiales y Método

Tipo de Estudio

En el presente estudio se llevó a cabo un programa de entrenamiento aeróbico sobre un cicloergómetro de MMII (miembro inferior) a una intensidad del 65-75% del Vo₂max, 3 veces por semana durante 3 meses dirigido a cada sujeto participante. Se analizó y relacionó causalidad de los efectos obtenidos, midiendo en etapa inicial (sesión 0) - etapa media (sesión 18) - etapa final (post sesión 36) y los hechos se estudiaron a medida que fueron sucediendo, por lo que el estudio es de tipo experimental, analítico, longitudinal y prospectivo.

Tipo de Muestreo

El universo muestral a nivel Chile corresponde al 25,1% de habitantes que se encuentra en condiciones de obesidad, es decir, IMC >30 kg/m². La población objetivo será los habitantes de la Región Metropolitana en condiciones de obesidad, y como población muestral se incluirán a sujetos que califiquen con los criterios de inclusión y exclusión, además de ser de la Región Metropolitana, preferentemente de Santiago para acudir a las mediciones y entrenamientos 3 veces por semana al Laboratorio de Investigación de Ciencias del Ejercicio de la Universidad Finis Terrae ubicado en Pedro de Valdivia 1509, Providencia.

Con respecto al tipo de muestreo es no probabilístico por conveniencia en sujetos tipo, ya que del total de sujetos que se interesaron en participar en el proyecto, y que efectivamente cumplieron con el perfil de búsqueda (en relación a criterios de inclusión y exclusión), se eligieron a aquellos que en ese momento se encontraron con disponibilidad de tiempo para la pronta realización de los exámenes de sangre, biopsia y Vo₂max inicial, para así continuar con las sesiones de entrenamiento.

Según la literatura, para detectar una diferencia de 40% en el promedio de las concentraciones de proteínas de TLR4, con una desviación estándar de 15% y

con una potencia del 80% y una probabilidad de error tipo I de un 5% a dos colas y un 10% de discontinuación, se requieren de 14 sujetos para la fase de randomización (Rodríguez-Miguel 2014). Previo comienzo del estudio, los sujetos deberán firmar un consentimiento informado. Anexo 2.

Los criterios de inclusión para cada grupo:

Grupo Normopeso:

- a) Edad entre 40 y 60 años, inclusive.
- b) IMC > 18 y < 25 kg/m²
- c) Sedentarismo (práctica regular de ejercicio <30 min/día, 3 veces/semana).

Grupo de Obesos:

- a) Edad entre 40 y 60 años, inclusive.
- b) IMC > 30 y < 40 kg/m²
- c) Sedentarismo (práctica regular de ejercicio <30 min/día, 3 veces/semana).

Los criterios de exclusión para todos los sujetos:

- a) Limitaciones físicas para realización de ejercicios.
- b) Presencia de patologías cardiorrespiratorias.
- c) Medicamentos que puedan afectar el metabolismo de la glucosa.
- d) HTA no controlada, equivalente a > 160/90 mmHg.
- e) Poseer DM1 o DM2.
- f) Antecedentes familiares de DM2
- g) Cualquier otro tipo de contraindicación médica para realización de ejercicio físico.

Proceso de obtención de datos e intervenciones:

El proceso de evaluación de los participantes se realizó antes del protocolo de ejercicio físico, a la sesión n°18 (equivalente al mes y medio), y cuando finalizaron sus 3 meses de intervención. Éstas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Ciencias del Ejercicio de la Universidad Finis Terrae y en laboratorios de toma de muestras según preferencia del sujeto de estudio.

Para la obtención de datos, al comenzar el estudio todos los sujetos completaron el cuestionario PAR-Q modificado (*Physical Activity Readiness Questionnaire*, Anexo 4), para determinar la aptitud para realizar ejercicio. Se calculó el IMC dividiendo el peso corporal por la talla al cuadrado (kg/m²), la obesidad se determinó según los parámetros de la OMS.

Capacidad Aeróbica:

La capacidad aeróbica se evaluó usando un cicloergómetro de MMII vertical (Matrix U1X) y un analizador de gases (Ergocard, Medisoft, Belgium) previamente calibrado para volumen y gases de referencia. Para la medición de la capacidad aeróbica máxima (VO₂max) se realizó el test de Astrand modificado (Astrand, 2003) de tipo incremental con monitoreo continuo de la frecuencia cardíaca (Zephyr). La prueba consistió en 2 min de pedaleo inicial sin carga de trabajo, seguidos de 2 min a 50W e incrementos de 50W cada 2 min en los varones (Anexo 6) y de 25W para las mujeres (Anexo 5) hasta cumplir con alguno de los criterios siguientes para finalizar la prueba; cuociente respiratorio >1.20, estabilización del consumo de oxígeno y/o frecuencia cardíaca a pesar del incremento en la carga de trabajo o incapacidad de mantener el ritmo de pedaleo entre 60 y 70 rpm. Esta prueba se realizó en el Laboratorio de Ciencias del Ejercicio.

HOMA y Glucosa en ayuno:

Mediante receta médica entregada por el Dr. Hugo Marambio, cada paciente incluido en el estudio procedió a su laboratorio de preferencia para toma de exámenes de rutina y realizarse, en ayuno de al menos 12hrs, los siguientes:

Glucosa en ayuno e insulina en ayuno. A través de los anteriores se calculó el HOMA para determinar niveles de resistencia a la insulina. Una vez realizado, con copia de bono y copia de resultados de los exámenes, se procedió a reembolsar el copago costado por parte del paciente al momento de la toma de muestras. Así se llevó a cabo la toma inicial de muestras y una segunda vez al finalizar los 3 meses de entrenamiento.

Biopsia Muscular:

Se solicitó a los pacientes asistir (en día consensuado con médico y pacientes) al Laboratorio de Ciencias del Ejercicio entre 8:00am y 9:00am en ayuna sin haber realizado, 48 horas antes, ningún tipo de ejercicios. Después de haber estado 30 minutos en reposo, se realizó la biopsia muscular en el vasto lateral del cuádriceps, utilizando la técnica de Bergstrom (Hennessey, 1997). Para esto el médico aplicó una anestesia local en la zona de la biopsia, para luego extraer una pequeña cantidad de tejido muscular ($\pm 100\text{mg}$), mediante la inserción de una cánula de Bergstrom (diámetro de 5mm) en el músculo. El tejido se analizó utilizando la técnica de Wester Blotting. Esta técnica ha sido utilizada ampliamente en estudios moleculares del músculo esquelético (Zbinden-Foncea, Van Loon, Raymackers, Francaux, & Deldicque, 2013).

Los riesgos asociados con este procedimiento son bajos, pero puede ocurrir sangrado y hematoma en la zona de la biopsia, además de una baja probabilidad de infección. Esta se minimizó mediante el uso de material quirúrgico esterilizado y una tórula de gasa estéril con alcohol para limpiar la piel antes de la inserción de la aguja, además del uso de agujas estériles-desechables para la administración de anestesia. Pero si por algún motivo la herida hubiese mostrado signos de infección como: enrojecimiento, dolor, sensación de fiebre local, sensación de pinchazos, inflamación e hinchazón en los bordes, el paciente estaba en conocimiento de comunicarse con el médico que realizó la biopsia directamente o mediante la alumna en su defecto, para examinar la herida y tomar las medidas de tratamiento adecuadas.

Después del procedimiento, el muslo de la mayoría de los sujetos experimentó dolor leve y sensibilidad táctil. Sin embargo, los sujetos fueron capaces de llevar a cabo todas sus actividades diarias con normalidad, excepto mojar la herida, durante las primeras 48 horas, ni realizar ejercicio físico durante 24hrs posteriores a la biopsia.

Western Blotting:

La muestra de tejido muscular, antes y después del entrenamiento, fue homogenizada usando el protocolo de Zbinden-Foncea et al, (Zbinden-Foncea, 2013), se cuantificó la cantidad de proteínas usando el *DC Bio-Rad Protein Assay Reagent*. Las proteínas se separaron con 12% SDS-PAGE y transferidas a una membrana de nitroceluosa de polifloruro de vinidileno mediante electroforesis. La membrana fue bloqueada durante 1 h en 5% de leche en solución salina tamponada con Tris + 0,1% Tween (TBST). Luego incubadas durante la noche a 4 ° C con el anticuerpo primario apropiado en TBST a 1: 1000. Luego la membrana se lavó tres veces (15 minutos cada vez) en TBST antes de la incubación durante 1 hora a temperatura ambiente con la peroxidasa apropiada junto al anticuerpo secundario en TBST a 1: 10.000 (Pierce, Rockford, IL). La unión del anticuerpo se detectó usando un kit de detección de quimioluminiscencia *horseradish peroxidase substrate* (Millipore, Billerica, MA). Imágenes y cuantificación de banda se llevaron a cabo mediante un sistema *Genius Chemi Bioimagen Doc Gel* (Syngene, Cambridge, Reino Unido).

Los anticuerpos primarios que se utilizaron para determinar la señalización de las distintas proteínas será: TLR4 de Santa Cruz Biotecnología y Akt, P38, JNK y ERK de *Cell Signaling*.

Plan de Entrenamiento

Luego de realizar todas las evaluaciones previas, los participantes se sometieron a un plan de ejercicio aeróbico siguiendo las indicaciones de la OMS/MINSAL, 150 min/sem de ejercicio en cicloergómetro, de intensidad

moderada (65-75% del VO₂ máx.). Por lo tanto, los pacientes debieron asistir 3 veces por semana al gimnasio de la Universidad Finis Terrae y llegar a realizar 50 minutos de ejercicio en bicicleta estática para la décima sesión de cada paciente. Teniendo en cuenta que los sujetos de estudio son sedentarios, la duración aplicada de forma progresiva fue la medida a tomar. El método de progresión utilizado se encuentra en la tabla 1 y la planilla de entrenamiento completa utilizada se encuentra en el anexo 7.

Tabla N°1: Progresión en duración de sesiones de entrenamiento aeróbico.

N° Sesión	20 minutos	25 minutos	30 minutos	35 minutos	40 minutos	45 minutos	50 minutos
1	X						
2	X						
3		X					
4			X				
5			X				
6				X			
7					X		
8					X		
9						X	
10							X

Se empleó como referencia de entrenamiento, la frecuencia cardiaca observada durante el test de VO₂max y los watts de carga a los que logró el 65-75% de VO₂max y de FCmax, ya que durante la evaluación inicial se monitorizaron aquellos dos parámetros. Los participantes contaron con supervisión personalizada de la alumna y control de la frecuencia cardiaca de trabajo. Los dos grupos fueron re evaluados al 1 ½ y 3 meses post intervención inicial, para ajuste de cargas y evaluación final respectivamente. Además, se llevó a cabo una consejería nutricional con una serie de recomendaciones básicas de una nutricionista colaboradora con el proyecto. Se realizó seguimiento de la dieta de los participantes durante todo el transcurso de la intervención.

En cada sesión de entrenamiento se llevó cuenta de la FC basal, durante y específicamente la lograda en el último minuto de ejercicio y se dejó registrado en una planilla que llevó cuenta además del número de sesión, fecha, carga de trabajo (watts) y Rpm promedio que debió lograr cada sujeto. Anexo 7.

Análisis Estadístico:

Finalmente, una vez recolectados todos los datos previos y posteriores al entrenamiento aeróbico, se ordenó la información en planilla Excel para de esta forma, esquematizar y analizar resultados a partir de la tabla 2 para variables clínicas y graficar para variables moleculares. El software utilizado fue *Graphpad Prism* versión 5.

Se utilizó un T test pareado entre cada grupo para datos clínicos personales como la edad y la talla. Se reportaron valores de media y desviación estándar. El grado de significancia será aceptada con un $P < 0,05$.

	NORMOPESO		OBESOS	
	PRE	POST	PRE	POST
n				
Sexo (M/F)				
Edad (años)				
Talla (mt)				
Peso (Kg)				
IMC (kg/m ²)				
VO2max (ltO2/min)				
VO2 KG (ml/min/Kg)				
Insulina (UI/mL)				
Glicemia (mg/dL)				
HOMA				
PERFIL LIPIDICO				
HDL (mg/dL)				
LDL (mg/dL)				
Colesterol (mg/dL)				
HEMOGRAMA				
Eritrocitos x10 ⁶ /mm ³				
Hemoglobina gr/dL				
Hematocrito %				
Leucocitos x10 ³ /mm ³				

Para realizar el análisis estadístico de variables clínicas modificables con el entrenamiento (entiéndase: VO_2 max, insulina y glicemia en ayuno, hemograma y perfil lipídicos) y niveles proteicos de TLR4, Akt, P38, ERK y JNK, se agruparon los datos en el software *Graphpad Prism* versión 5, y los resultados obtenidos gráficamente se llevó a cabo un ANOVA de dos vías (grupo y tiempo) con un test post-hoc de Bonferroni y se determinó valores de media y desviación estándar.

La significancia estadística se aceptó para valores de $P < 0,05$.

VARIABLES DE ESTUDIO

Tabla N°3: Operacionalización de variables dependientes.

Variable Dependiente	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Instrumento
Niveles de TLR4 sarcoplasmático	Concentración en membrana sarcoplásmica de receptores Toll-Like 4 en muestra de vasto lateral.	Expresión génica elevada >1-2	Unidades arbitrarias (AU)	Técnica de Western Blotting con BIO-RAD
Niveles de Pkb (Akt) y MAPK (P38)	Concentración sarcoplásmica de proteína kinasa B y <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i> en muestra de vasto lateral.	Expresión génica elevada >1-2	Unidades arbitrarias (AU)	Técnica de Western Blotting con BIO-RAD
Resistencia a la Insulina	Inadecuada captación de la glucosa dependiente de insulina por parte de los tejidos, especialmente del hígado, músculo y tejido adiposo, lo cual se ve evidenciado con una hiperinsulinemia y/o hiperglicemia. (Carrasco F, Galgani J, Reyes M. 2013).	<p>Normal: Ayuno <100 y PC <140</p> <p>Glucosa alterada en ayuno (GAA): ayuno 100-125 y PC <140</p> <p>Intolerancia a la glucosa oral (IGO): ayuno <126 y PC 140-199</p> <p>GAA+IGO: ayuno 100-125 y PC 140-199</p> <p>Diabetes: ayuno ≥126 y PC ≥200</p> <p>GAA y/o IGO → equivalente a resistencia a la insulina.</p>	Miligramos por decilitro (mg/dL)	<p>Insulina y glicemia en ayuno realizado en laboratorio de muestras.</p> <p>HOMA: Homeostatic Model Assessment</p> <p>Fórmula especificada en figura 1.</p>

Las variables dependientes de nuestro estudio, comprenden todas las pruebas que realizaremos antes y después del entrenamiento aeróbico de 3 meses, y que se presentarán según los valores descritos en la tabla N°3, en una tabla de resultados en la sección correspondiente.

Para el cálculo del índice de HOMA, se utilizaron las fórmulas establecidas según Keskin (2004).

a) $\frac{\text{Fasting Insulin (IU/L)} \times \text{Fasting Glucose (mmol/L)}}{22.5}$
Or
b) $\frac{\text{Fasting insulin (UI/mL)} \times \text{Fasting glucose (mg/dL)}}{405}$

Figura N°1: Fóruvla de cálculo de HOMA según unidades:
a) "IU/L": Unidades internacionales/Litro; "mmol/L": milimoles/Litro.
b) "UI/mL": Unidades internacionales/mililitro; "mg/dL": miligramos/decilitro.
(Keskin, 2004)

Todas las variables anteriores van a depender de la variable independiente del estudio, el entrenamiento físico aeróbico de 3 meses.

Capítulo 3: Resultados

Adherencia al entrenamiento

Del total de sujetos interesados por participar inicialmente, solo el 46,6% (14 sujetos de 30) fue reclutado e ingresó al programa de entrenamiento. Los 14 sujetos completaron su entrenamiento, resultando en un 100% de adherencia una vez iniciado el protocolo experimental. Todos los sujetos fueron capaces de seguir el modelo de progresión propuesto sin inconvenientes.

Perfil de los sujetos

Sobre las características personales no modificables los resultados son los siguientes: 7 sujetos normopeso (2 varones y 5 damas) y 7 sujetos obesos (4 varones y 3 damas) con edades promedio de $52,8 \pm 3,8$ años para el grupo I (normopeso) y $50,4 \pm 5,4$ años para el grupo II (obeso); Talla de $1,60 \pm 0,1$ mts para el grupo I y $1,70 \pm 0,1$ para el grupo II (Tabla N°4).

En la tabla N°4 pueden observarse también, los resultados obtenidos sobre las variables clínicas modificables a partir del entrenamiento aeróbico:

Peso e índice de masa corporal

El peso previo al entrenamiento (PRE-T) para el grupo normopeso fue de $67,3 \pm 5,6$ Kg y posterior al entrenamiento (POST-T) disminuyó a $65,5 \pm 5,2$ Kg, para el grupo obeso, el peso PRE-T fue de $98 \pm 17,8$ Kg y POST-T de $94,9 \pm 16,5$ Kg, representando un cambio estadísticamente significativo ($P < 0,05$). De esta misma manera, el IMC también obtuvo cambios estadísticamente significativos; para el grupo normopeso un IMC inicial de $25 \pm 0,9$ Kg/m² y de $24,4 \pm 0,8$ Kg/m² final, para el grupo obeso un IMC inicial de $34,7 \pm 3,7$ Kg/m² y $33,7 \pm 3,2$ Kg/m² final ($P < 0,05$).

Capacidad aeróbica máxima

En cuanto al consumo de oxígeno máximo absoluto, para el grupo normopeso, los valores incrementaron de $1,2 \pm 0,1$ L O₂/min a $1,6 \pm 0,9$ L O₂/min ,

y para el grupo obeso, los valores incrementaron de $2,1 \pm 0,7$ L O₂/min a $2,5 \pm 0,8$ L O₂/min, produciéndose resultados estadísticamente significativos ($P < 0,01$).

Resistencia a la insulina

Para las variables asociadas a la insulino resistencia, los resultados de niveles de insulina en ayuno para el grupo normopeso fueron $8,4 \pm 2,5$ UI/mL PRE-T y $7,2 \pm 1,6$ UI/mL POST-T, no representando cambios relevantes. A diferencia de los resultados obtenidos en el grupo obeso, en el cuales los niveles de insulina en ayuno disminuyeron de $31,5 \pm 10,1$ UI/mL PRE-T a $24,2 \pm 8,7$ UI/mL POST-T ($P < 0,01$).

Para los niveles de glicemia en ayuno, en el grupo normopeso los valores disminuyeron de $99,5 \pm 9,9$ mg/dL a $91,8 \pm 9,3$ mg/dL, y en el grupo obeso disminuyeron de $104,4 \pm 7,5$ mg/dL a $98,4 \pm 7,1$ mg/dL ($P < 0,05$).

Por lo tanto y según lo anterior, los valores de HOMA representaron cambios estadísticamente significativos para el grupo normopeso disminuyendo de $2,1 \pm 0,7$ a $1,5 \pm 0,4$ ($P < 0,05$), y para el grupo obeso disminuyendo de $7,8 \pm 2,6$ a $5,8 \pm 2,3$ ($P < 0,01$).

Tabla N°4: Variables clínicas antes y después de tres meses de entrenamiento de tipo aeróbico en pacientes normopeso y obesos. Datos son promedio \pm DS. Pre vs Post * $<0,05$ y ** $P<0,01$.

	NORMOPESO		OBESOS	
	PRE	POST	PRE	POST
n	7		7	
Sexo (M/F)	2/5		4/3	
Edad (años)	52,8 \pm 3,8		50,4 \pm 5,4	
Talla (mt)	1,60 \pm 0,1		1,70 \pm 0,1	
Peso (Kg)	67,3 \pm 5,6	65,5 \pm 5,2	98 \pm 17,8	94,9 \pm 16,5*
IMC (kg/m ²)	25 \pm 0,9	24,4 \pm 0,8	34,7 \pm 3,7	33,7 \pm 3,2*
VO ₂ max (ltO ₂ /min)	1,2 \pm 0,1	1,6 \pm 0,9*	2,1 \pm 0,7	2,5 \pm 0,8**
VO ₂ KG (ml/min/Kg)	17,7 \pm 2,8	23,2 \pm 2,2 *	21,7 \pm 6,1	26,3 \pm 6,9**
Insulina	8,4 \pm 2,5	7,2 \pm 1,6	31,5 \pm 10,1	24,2 \pm 8,7**
Glicemia	99,5 \pm 9,9	91,8 \pm 9,3*	104,4 \pm 7,5	98,4 \pm 7,1*
HOMA	2,1 \pm 0,7	1,5 \pm 0,4 *	7,8 \pm 2,6	5,8 \pm 2,3**
PERFIL LIPIDICO				
HDL (mg/dL)	59,8 \pm 8,7	57,8 \pm 16,1	50,7 \pm 14,5	46,2 \pm 12,2
LDL (mg/dL)	108,8 \pm 32,4	98 \pm 31,8	141,3 \pm 41	126,9 \pm 34
Colesterol (mg/dL)	178,8 \pm 32,5	167,8 \pm 35**	222,6 \pm 46,7	203,6 \pm 41,6*
HEMOGRAMA				
Eritrocitos x10 ⁶ /mm ³	4,6 \pm 0,3	4,8 \pm 0,4	5 \pm 0,3	5,2 \pm 0,3
Hemoglobina gr/dL	12,6 \pm 1,2	13,5 \pm 0,7	14,5 \pm 0,8	15,1 \pm 1*
Hematocrito %	37,9 \pm 4,8	40,6 \pm 3	43,1 \pm 2,3	44,7 \pm 2,3*
Leucocitos x10 ³ /mm ³	6,1 \pm 0,4	6 \pm 0,5	6,6 \pm 0,7	6,4 \pm 0,5

Perfil Lipídico

Observando los resultados obtenidos en el perfil lipídico de los sujetos, éstos alcanzaron disminuciones significativas desde el punto de vista estadístico, ya que los niveles de colesterol total lograron llegar de 222,6 \pm 46,7 mg/dL a 203,6 \pm 41,6 mg/dL ($P < 0.05$). Por otra parte, el grupo normopeso alcanzó disminuciones significativas ($P < 0.01$) variando desde 178,8 \pm 32,5 mg/dL a 167,8 \pm 5 mg/dL.

Hemograma

Finalmente, en los resultados obtenidos desde el hemograma realizado a cada sujeto, los cambios solo fueron estadísticamente significativos para niveles de hemoglobina en obesos, en quienes aumentó de $14,5 \pm 0,8$ gr/dL a $15,1 \pm 1$ gr/dL ($P < 0,05$) y hematocrito en obesos, desde $43,1 \pm 2,3$ gr/dL a $44,7 \pm 2,3$ gr/dL. Para el grupo normopeso no hubo diferencias significativas para ninguno de los parámetros medidos.

Western Blotting

En la Figura 2, podemos observar los distintos contenidos proteicos en muestras musculares de vasto lateral, observados antes y después del entrenamiento aeróbico y se desprenden los siguientes resultados:

Para niveles de contenido proteico de TLR4, refiriéndose a valores absolutos, tanto en los sujetos normopeso como en los obeso, no existió cambio estadísticamente significativo entre grupos ($P= 0,85$). Sin embargo, se observa una leve tendencia entre niveles previos y posteriores al entrenamiento ($P= 0,08$).

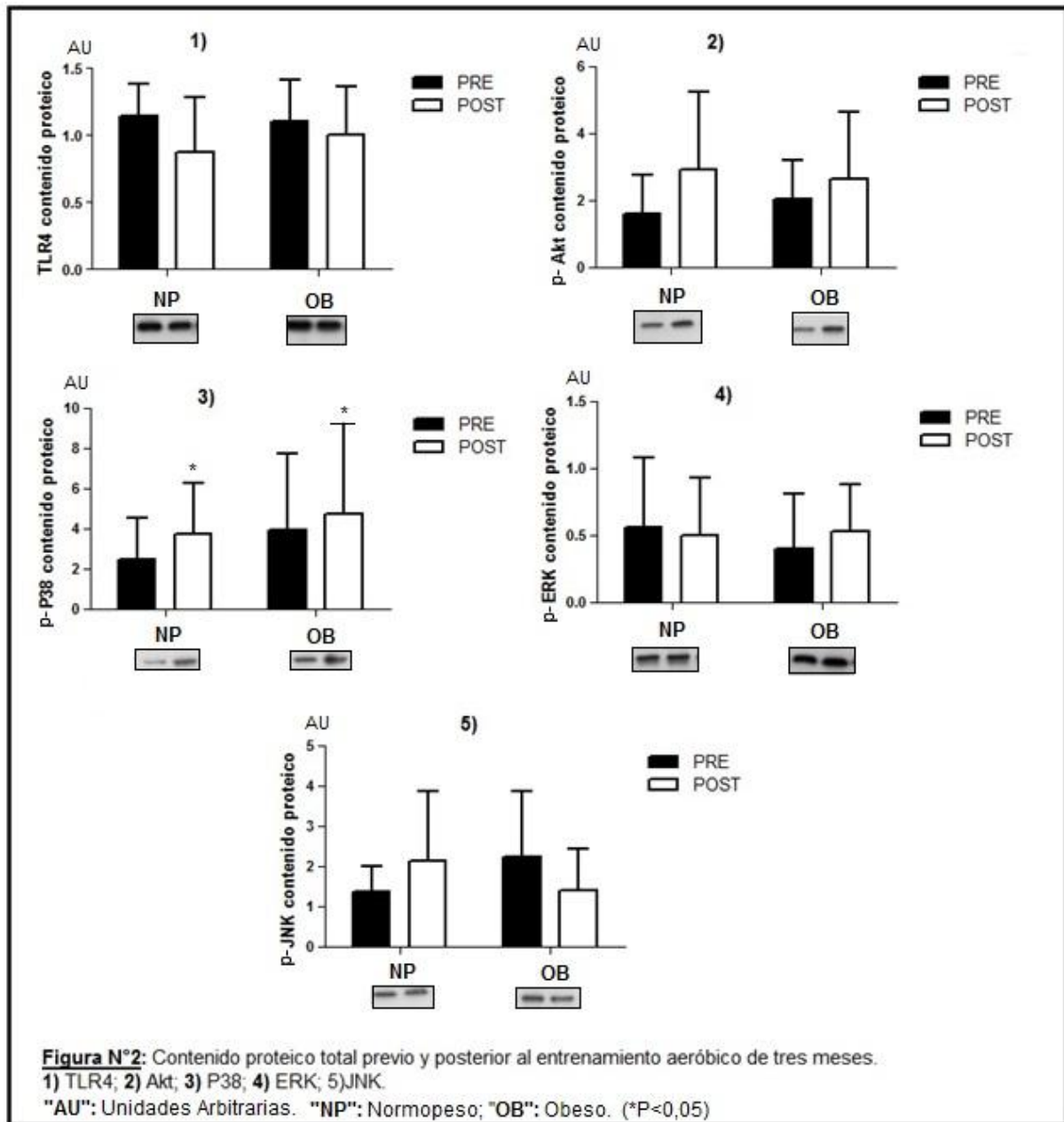
El contenido proteico de Akt no presenta tendencia de ningún tipo sobre valores absolutos, así como tampoco se observó cambios estadísticamente significativos, con valores $P= 0,9405$ entre grupos y $P= 0,2259$ entre pre y post al entrenamiento.

Para los valores de contenido proteico de P38, existe una clara tendencia al aumento sobre valores absolutos posterior a la exposición a un programa de entrenamiento aeróbico de 3 meses, con diferencias estadísticamente significativas entre el pre y post con un valor $P= 0,04$, y sin diferencias entre grupos ($P=0,61$).

Para niveles de contenido proteico de ERK, no existió cambio estadísticamente significativo entre grupos, con un valor $P=0,76$, ni entre valores previos y posteriores al entrenamiento $P=0,86$.

Finalmente, para los valores obtenidos de proteína JNK, no existió cambios estadísticamente significativos entre grupos con $P=0,93$, ni entre valores previos y posteriores al entrenamiento, con $P=0,96$.

A los 3 meses de terminado el estudio, el 50% del total de los sujetos mantuvo el nivel de actividad física de forma voluntaria, un 42,9% correspondiendo al grupo normopeso y un 57,1% correspondiente al grupo obeso.



Capítulo 4: Discusión

Sobre los efectos positivos del ejercicio aeróbico en niveles de $VO_2\text{max}$ se tiene gran información. Es conocido que el entrenamiento regular de tipo aeróbico aumentará el $VO_2\text{max}$ en sujetos sanos (Helgerud, 2007) y en pacientes obesos (Gormley, 2008). En nuestro estudio de 3 meses de entrenamiento aeróbico los valores de $VO_2\text{max}$ absoluto y relativo, fueron similares a otras investigaciones, con porcentajes de cambio de 31% y 19% ($VO_2\text{max}$ absoluto) para el grupo normopeso y obeso respectivamente (Gormley, 2008). Sin duda, existió un aumento de hemoglobina y hematocrito en ambos grupos, pero solo fue estadísticamente significativo en los sujetos obesos, lo cual puede explicar el aumento del $VO_2\text{max}$ en estos sujetos.

Se ha observado en investigaciones previas (Hawley, 2004), que el ejercicio físico crónico es capaz de producir un aumento en la acción de la insulina, y que efectivamente es la mejor herramienta terapéutica para sujetos en alto riesgo de padecer DM2. La intensidad, la duración y la frecuencia usada en nuestro estudio coinciden con los recomendados por la OMS y además son los ampliamente utilizados como método de tratamiento e investigación en otros trabajos (Bird, 2012., Gormley, 2008).

Los resultados obtenidos en este estudio sobre la resistencia a la insulina concuerdan con los obtenidos por PAN (1997), quien demostró que la incorporación de ejercicio aeróbico de manera crónica, es capaz de disminuir los niveles de resistencia a la insulina y además perdurar en el tiempo, disminuyendo la probabilidad de desarrollar DM2 en sujetos con predisposición. Nuestro estudio confirma tales hallazgos ya que en los sujetos normopeso y obesos disminuyó un 28,5% y 25,6% sus niveles de HOMA respectivamente, desde valores previos al entrenamiento. De manera importante, para el grupo obeso, esta disminución significó bordear los valores normalmente aceptados como valores de referencia.

Otras investigaciones han reconocido los efectos anti-inflamatorios del ejercicio crónico, indicando que se deberían al incremento en el metabolismo de ácidos grasos, disminuyendo el contenido lipídico total, resultando finalmente en un menor reclutamiento de células inmunes y limitando la activación de vías pro-inflamatorias, tan características de sujetos en condición de obesidad (Lancaster & Febbraio, 2014). Esto se vio evidenciado en ambos grupos de nuestra investigación ya que los sujetos normopeso obtuvieron un porcentaje de cambio de 6,5% en niveles de colesterol total, y un 10% en sujetos obesos, disminución que le significó al grupo obeso bordear nuevamente valores referenciales comúnmente aceptados para niveles de colesterol total en nuestro país.

Niveles elevados de TLR4 en sujetos obesos e insulino resistentes se han demostrado en estudios previos, indicando que a mayor grado de insulino resistencia, mayor contenido proteico de TLR4 se observa en el músculo esquelético en dicha población (Reyna, 2008). Los resultados obtenidos en nuestro estudio no son capaces de demostrar la misma asociación. Esto puede deberse a la cantidad de participantes evaluados en los parámetros bioquímicos, ya que fueron solo 4 de los 7 participantes en este grupo. Otra explicación, puede deberse a que nuestros sujetos no presentaban altos niveles de inflamación. Estudios futuros que sean capaces de medir marcadores de inflamación como IL-6 y TNF-alfa son necesarios para elucidar estas diferencias.

En cuanto a valores obtenidos para la proteína p38, nuestro estudio mostró que 3 meses de entrenamiento físico fue capaz de aumentar el estado de fosforilación de esta proteína en sujetos normopeso y obesos. Esto podría estar relacionado con la disminución de la resistencia a la insulina observada principalmente en los sujetos obesos (disminución de índice HOMA) ya que la proteína p38 juega un papel en la captación de la glucosa al ejercicio físico (Carmody & Chen, 2007). Estudios en animales y miotúbulos humanos han mostrado una relación entre TLR y la proteína p38 en musculatura sometida a un ejercicio agudo (Zbinden, 2012) concluyendo que la activación de p38 es producto del contenido proteico de TLR4 al ejercicio físico. Considerando la proteína ERK

en nuestro estudio, no se observaron diferencias entre los pacientes normopeso y obesos. Esto se contradice con lo observado en el estudio de Zbinden (2013) quien sometió a un ejercicio agudo a pacientes sanos y diabéticos observando que posterior al ejercicio existe un aumento en la fosforilación de la proteína ERK. Esto puede deberse a las diferencias entre un ejercicio agudo y el efecto del entrenamiento regular. Estudios que evalúen el estado de fosforilación inmediatamente post ejercicio podrán responder a esta interrogante, sumada al conocimiento del contenido total de proteínas que puede verse afectado a un plan de 3 meses de entrenamiento pero que no fue estudiado en nuestra investigación.

Por último, en nuestro estudio se observó una tendencia al aumento en el estado de fosforilación de la proteína JNK en los sujetos obesos versus normopeso, lo cual puede verse explicado más en detalle debido a que de los 4 sujetos normopeso evaluados molecularmente, uno de ellos aumentó significativamente, disparándose del resto y determinando el resultado del grupo. Esta proteína está asociada al estado de inflamación del músculo esquelético (Fernandez-Veledo, 2009; Torres-Leal, 2010). Luego de 3 meses de entrenamiento aeróbico, en los sujetos obesos se observó una disminución en los 4 sujetos evaluados, llegando a valores del grupo normopeso. Si consideramos en su conjunto los cambios ocurridos en la proteína p38 y JNK se contraponen a lo observado en el contenido proteico de TLR4 donde no se observaron modificaciones. No excluimos la posibilidad que exista otra cascada de señalización celular que afecte éstas proteínas independientes de TLR4.

Nuestra principal limitación fue el número de análisis de biopsias musculares realizadas debido principalmente a temas logísticos del Laboratorio de Ciencias del Ejercicio, lugar donde se realizaron esos análisis y sumado a la complejidad de estas mediciones en humanos que no permitió obtener el contenido total para las proteínas evaluadas, excluyendo TLR4 que si se logró realizar.

Futuros estudios que consideren un número mayor de participantes y sujetos con un alto estado de inflamación, son necesarios para elucidar el real rol

del entrenamiento físico en la inflamación y su relación con la resistencia a la insulina.

Conclusiones

El entrenamiento aeróbico en cicloergómetro de miembro inferior al 65-75% del VO_2 max de cada sujeto, implementado de manera crónica (igual o mayor a 3 meses), es capaz de producir una disminución en la resistencia a la insulina en sujetos obesos acompañado de una disminución del contenido lipídico total y posiblemente una disminución de proteínas asociadas a la inflamación, sin ninguna modificación en TLR4.

Bibliografía

- Abdul-Ghani, M. A., & DeFronzo, R. A. (2010). Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 476279. doi: 10.1155/2010/476279.
- Akira, S. (2006). TLR signaling. *Curr Top Microbiol Immunol*, 311, 1-16.
- Bird, S. R., & Hawley, J. A. (2012). Exercise and type 2 diabetes: new prescription for an old problem. *Maturitas*, 72(4), 311-316.
- Bergstrom, J. (1975). Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and clinical research. *Scand J Clin Lab Invest*, 35(7), 609-16.
- Carrasco F, Galgani J, Reyes M. 2013. Insulin Resistance Syndrome; Diagnosis and Management. *Rev Med Clin Condes*. 24(5) 827-837.
- Carmody, R. J., & Chen, Y. H. (2007). Nuclear factor-kappaB: activation and regulation during toll-like receptor signaling. *Cell Mol Immunol*, 4(1), 31-41.
- Fernandez-Veledo, S., Vila-Bedmar, R., Nieto-Vazquez, I., & Lorenzo, M. (2009). c-Jun N-terminal kinase 1/2 activation by tumor necrosis factor-alpha induces insulin resistance in human visceral but not subcutaneous adipocytes: reversal by liver X receptor agonists. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(9), 3583-3593.
- Fox, C. S., Pencina, M. J., Meigs, J. B., Vasan, R. S., Levitzky, Y. S., & D'Agostino, R. B., Sr. (2006). Trends in the incidence of type 2 diabetes mellitus from the 1970s to the 1990s: the Framingham Heart Study. *Circulation*, 113(25), 2914-2918.
- Gao, Z., Hwang, D., Bataille, F., Lefevre, M., York, D., Quon, M. J., & Ye, J. (2002). Serine phosphorylation of insulin receptor substrate 1 by inhibitor kappa B kinase complex. *J Biol Chem*, 277(50), 48115-48121.
- Hawley, J. A., Hargreaves, M., & Zierath, J. R. (2006). Signalling mechanisms in skeletal muscle: role in substrate selection and muscle adaptation. *Essays Biochem*, 42, 1-12.
- Himes, R. W., & Smith, C. W. (2010). Tlr2 is critical for diet-induced metabolic syndrome in a murine model. *Faseb J* 24(3), 731-739.
- Houmard, J., Tanner, C., Slentz, C., Duscha, B., McCartney, J., Krauss, W. (2003). Effect of the volume and intensity of exercise training on insulin sensitivity. *J Appl Physiol*, 96: 101-106.
- Hussey, S.E., Lum, H., Alvarez, A., Cipriani, Y., Garduño-Garcia, J., Anaya, L., Dube, J., Musi, M. (2014). A sustained increase in plasma NEFA upregulates

- the Toll-like receptor network in human muscle. *Diabetologia*, 57, 582–591.
- Jialal, I., Kaur, H., & Devaraj, S. (2014). Toll-like receptor status in obesity and metabolic syndrome: a translational perspective. *J Clin Endocrinol Metab*, 99(1), 39-48.
- Kahn, S. E., Hull, R. L., & Utzschneider, K. M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 840-846.
- Krishnappa, S., Yashoda, H., Boraiah, G., Vishwa, S. (2015). Sagittal Abdominal Diameter to Measure Visceral Adipose Tissue in Overweight. *J Clin Diagn Res*, 9(11), 9-12.
- Kramer, H.F. & Goodyear, L.J. (2007). Exercise, MAPK, and NF-κB signaling in skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 103, 388–395.
- Lancaster, G. I., & Febbraio, M. A. (2014). The immunomodulating role of exercise in metabolic disease. *Trends Immunol*, 35(6), 262-269.
- Mayer-Davis, E., D'Agostino, R., Karter, A., Haffner, S., Rewers, M., Saad, M., Bergman, R. (1998). Intensity and Amount of Physical Activity in Relation to Insulin Sensitivity. *JAMA*, 279(9), 669-674.
- Ministerio de Salud de Chile. (2009-2010). Encuesta Nacional de Salud. ENS.
- Mokdad, A. H., Ford, E. S., Bowman, B. A., Dietz, W. H., Vinicor, F., Bales, V. S., & Marks, J. S. (2003). Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA*, 289(1), 76-79.
- Neeland, I. J., Turer, A. T., Ayers, C. R., Powell-Wiley, T. M., Vega, G. L., Farzaneh-Far, R., de Lemos, J. A. (2012). Dysfunctional adiposity and the risk of prediabetes and type 2 diabetes in obese adults. *JAMA*, 308(11), 1150-1159.
- Nguyen, D. M., & El-Serag, H. B. (2010). The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am*, 39(1), 1-7.
- Organización Mundial de la Salud. (2016). Actividad Física: Nota descriptiva n°384.
- Pan, XR., Li, GW., Hu, YH.(1997). Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Qing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care*, 20: 537–544.
- Pescatello, L. S., & VanHeest, J. L. (2000). Physical activity mediates a healthier body weight in the presence of obesity. *Br J Sports Med*, 34(2), 86-93.
- Qatanani, M., & Lazar, M. A. (2007). Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev*, 21(12), 1443-1455.

- Resnick, H. E., Valsania, P., Halter, J. B., & Lin, X. (2000). Relation of weight gain and weight loss on subsequent diabetes risk in overweight adults. *J Epidemiol Community Health*, 54(8), 596-602.
- Reyna, S. M., Ghosh, S., Tantiwong, P., Meka, C. S., Eagan, P., Jenkinson, C. P., . . . Musi, N. (2008). Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects. *Diabetes*, 57(10), 2595-2602.
- Ringeis, R., Eder, K., Mooren, F. C., & Kruger, K. (2015). Metabolic signals and innate immune activation in obesity and exercise. *Exerc Immunol Rev*, 21, 58-68.
- Rodriguez-Miguel P, Fernández R, Collado P, Almar M, Martínez-Florez S, González-Gallego J, Cuevas M. (2014). Whole-body vibration improves the anti-inflammatory status in elderly subjects through toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways. *Mechanisms of Ageing and Development*. 150,12–19.
- Schalkwijk, C. G., & Stehouwer, C. D. (2005). Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci*, 109(2), 143-159.
- Torres-Leal, F. L., Fonseca-Alaniz, M. H., Rogero, M. M., & Tirapegui, J. (2010). The role of inflamed adipose tissue in the insulin resistance. *Cell Biochem Funct*, 28(8), 623-631.
- Tsukumo, D. M., Carvalho-Filho, M. A., Carvalheira, J. B., Prada, P. O., Hirabara, S. M., Schenka, A. A., . Saad, M. J. (2007). Loss-of-function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(8), 1986-1998.
- Zbinden-Foncea, H., van Loon, L. J., Raymackers, J. M., Francaux, M., & Deldicque, L. (2013). Contribution of nonesterified fatty acids to mitogen-activated protein kinase activation in human skeletal muscle during endurance exercise. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 23(3), 201-209.
- Zbinden-Foncea, H., Deldicque, L., Pierre, N., Francaux, M., Raymackers, J-P. (2012). TLR2 and TLR4 activation induces p38 MAPK-dependent phosphorylation of S6 kinase 1 in C2C12 myotubes. *Cell Biol Int*, 36: 1107-1113.

Anexos

Anexo 1. Copia Digitalizada Carta Comité de Ética de aprobación proyecto FONDECYT N° 11150576



COMITÉ ETICO CIENTIFICO UNIVERSIDAD FINID TERRAE INFORME DE ASPECTOS BIOÉTICOS PROYECTO FONDECYT 2015

N° Proyecto	Fondecyt aprobado N° 11150576
Investigador/a Responsable	Hermann Zbinden Foncea
Título	Down-regulation of TLR4 by endurance exercise and consequences for insulin sensitivity and low grade inflammation in obese diabetic patients.
Institución	Universidad Finis Terrae
Unidad Académica	Escuela de Kinesiología, Facultad de Medicina
Fecha	Santiago, 22 de diciembre de 2015

Con fecha 22 de diciembre de 2015 se reunió el Comité Ético Científico (CEC) de la Universidad Finis Terrae y evaluó los aspectos bioéticos del proyecto arriba señalado.

El CEC de la Universidad Finis Terrae certifica, a través de su presidente, que la investigación en cuestión fue examinada y aprobada por este comité y cumple con los siguientes requisitos:

- *Se ajusta a las normas y criterios éticos establecidos en los códigos nacionales de ética y/o leyes vigentes.*
- *Describe satisfactoriamente la forma como se protegerán los derechos y bienestar de los sujetos involucrados en la investigación.*
- *Presenta de manera satisfactoria, el consentimiento informado y la estrategia de obtención del mismo (anexos incluidos).*
- *Describe de manera satisfactoria, las razones de inclusión y/o exclusión de determinados sujetos humanos.*
- *Describe de manera satisfactoria, los procedimientos de vigilancia que serán aplicados y las previsiones de interrupción de la investigación por evidencias suficientes de riesgos o beneficios.*

Anexo 2. Carta de información al participante y consentimiento informado

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del Estudio:

“Efectos del entrenamiento aeróbico sobre los niveles de TLR4 en el músculo esquelético de sujetos normopeso y obeso: Consecuencias en la inflamación e insulino resistencia”

Patrocinador del Estudio: Facultad de Medicina, Escuela de Kinesiología, Laboratorio de Investigación de Ciencias del Deporte de Universidad Finis Terrae.

Fuente de Financiamiento: FONDECYT otorgado al Dr. Hermann Zbinden Foncea PhD._ Laboratorio de Ciencias del Ejercicio, Universidad Finis Terrae.

Investigador Responsable: Dr. Herman Zbinden Foncea. PhD

Alumno Co-Investigador: Daniela Victoria Ávalos Allel.

Unidad Académica: Escuela de Kinesiología.

Lugar donde se realizará el estudio:

Centro de Investigación en Salud de la Facultad de Medicina – Universidad Finis Terrae. Dirección: Avenida Pedro de Valdivia 1590, Providencia, Santiago.

El propósito de esta información es ayudarle a tomar la decisión de participar o no en este estudio de investigación. Además, para que usted nos autorice el uso de las muestras de tejido que se le extraerán o de la información que obtengamos de usted en esta investigación.

Lea cuidadosamente este documento. Siéntase en absoluta libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá **que**

voluntariamente firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

I. Objetivo de la Investigación

Usted ha sido invitado/invitada a participar de este estudio, porque cumple con las características de alguno de los dos grupos de sujetos que se desea investigar:

Grupo Normopeso:

- Índice de masa corporal (IMC) > 18 y < 25 kg/m²
- Sedentarismo (práctica regular de ejercicio < 30 min/día, 3 veces/semana).

Grupo de Obesos:

- IMC > 30 y < 40 kg/m²
- Sedentarismo (práctica regular de ejercicio < 30 min/día, 3 veces/semana).

El objetivo de este estudio es poder comprender los mecanismos por el cual el ejercicio físico tiene un rol protector en la salud. Conociendo los mecanismos moleculares que intervienen sobre la enfermedad, nuestros resultados podrán dar información relevante para el tratamiento de la diabetes mellitus y los trastornos provocados por la obesidad en el futuro y mejorar los tratamientos actuales.

II. A) Procedimientos de la investigación: Metodología

Se desarrollará un programa de entrenamiento aeróbico de 50 minutos de bicicleta estática, 3 veces a la semana durante 3 meses, el cual será realizado en el gimnasio de la Universidad Finis Terrae. Se requiere asistir con ropa cómoda y zapatillas a todas las sesiones de ejercicio. Además, será sometido a las

siguientes mediciones fisiológicas antes y después de haber realizado el programa de ejercicio:

1. Prueba de capacidad aeróbica máxima:

Para ello se le solicitará a usted realizar un ejercicio en una bicicleta estática hasta el máximo de su capacidad. Durante el ejercicio estará conectado(a) mediante una mascarilla a un equipo que medirá su consumo de oxígeno y con un electrodo que se colocará en su pecho se medirá su frecuencia cardiaca. Ambas mediciones se verán en un monitor de pantalla de computador. Para esta prueba usted deberá concurrir con ropa cómoda, al Laboratorio de Ciencias del Ejercicio de la Universidad Finis Terrae.

2. Exámenes de laboratorio:

Previo al inicio del entrenamiento, y posterior al término, se le entregará una orden médica otorgada por el Dr. Hugo Marambio, en la cual se le solicitarán los siguientes exámenes sanguíneos:

- Insulina en ayuno
- Glicemia en ayuno
- Perfil Lipídico
- Hemograma y VHS

Los cuales deberá realizarse en el laboratorio de su preferencia y no tendrán ningún costo monetario para usted. Se le devolverá el 100% del copago realizado por usted al momento de la toma de muestras.

3. Biopsia muscular

Se solicitará a usted asistir al Laboratorio de Ciencias del Ejercicio entre 8:00am y 9:00am en ayuna de 12hrs sin haber realizado, 48 horas antes, ningún tipo de ejercicio. Después de haber estado 30 minutos en reposo, la biopsia muscular se efectuará en el muslo (vasto lateral del cuádriceps). Para esto el médico aplicará una anestesia local en la zona de la biopsia, luego extraerá una pequeña cantidad de tejido muscular, mediante la inserción de una cánula (figura 1) de biopsia en el músculo.

Las muestras serán almacenadas por 5 años, en el Laboratorio de Ciencias del Ejercicio de la Universidad Finis Terrae, bajo la responsabilidad del Dr. Hermann Zbinden. Si en un futuro son usadas para propósitos diferentes a los de esta investigación, se le solicitará firmar un nuevo consentimiento.

4. Ingesta de alimentos:

Se llevará a cabo una consejería nutricional básica a través de nutricionista colaboradora con el proyecto y a las recomendaciones de la INTA y se realizará un seguimiento de su dieta durante todo el transcurso de la intervención.

II. B) Consideraciones en las mediciones:

Antes y después de realizar las mediciones, debe abstenerse de hacer ejercicio durante al menos 48 horas. También se le solicitará que se abstengan de tomar cualquier estimulantes o depresores (incluyendo cafeína o alcohol) durante al menos 12 horas antes de las pruebas. También debe mantener una dieta normal y beber abundante agua el día anterior y el día de la prueba. Durante el programa de ejercicio, no estará permitido utilizar suplementos nutricionales. Para prevenir una infección en la zona donde se realizará la biopsia, usted deberá protegerla con un apósito de gasa estéril más parche impermeable y evitar el contacto con el agua durante las primeras 48 horas.

III. Beneficios del estudio:

- Usted será evaluado con distintas mediciones fisiológicas, las que se han descrito anteriormente. Estas nos ayudarán a conocer su estado de riesgo y salud cardiovascular, las cuales serán informadas y explicadas a usted.
- Usted al realizar ejercicio aeróbico regular 3 veces a la semana por 3 meses, podrá ayudar a prevenir o retrasar la aparición de determinadas enfermedades, como por ejemplo la diabetes mellitus tipo 2, obesidad, hipertensión, entre otras. Por otra parte, aumentará su capacidad física, ya que se mejorará la fuerza y resistencia muscular.

- Usted podrá saber cómo su organismo responde al ejercicio físico. Observando si sus respuestas frente a este estímulo tienen un gran margen positivo de cambio o este cambio es pequeño al realizar 3 meses de ejercicio físico.

- Las sesiones de ejercicio aeróbico serán realizadas de forma gratuita, utilizando equipos modernos y bajo supervisión de la alumna encargada.

- Su participación en este estudio nos ayudará a entender los efectos moleculares de un entrenamiento aeróbico en los parámetros de salud y en los riesgos cardiovasculares.

- Todos estos beneficios tendrán una repercusión para otras personas que están en condiciones similares a la suya.

IV. Riesgos del estudio:

- Puede experimentar cierto grado de dolor muscular, debilidad y rigidez en los músculos ejercitados los días siguientes al ejercicio aeróbico. Estos síntomas son propios del ejercicio físico y desaparecerán en pocos días.

- Para poner a prueba su capacidad aeróbica máxima se realizará una prueba máxima progresiva en bicicleta estática. Durante la prueba, usted respirará por una mascarilla para recoger el aire y los gases durante la prueba; esto puede causar desconformidad. Este tipo de test máximo se ha utilizado en la fisiología del ejercicio por mucho tiempo. Sin embargo, existe cierto riesgo de desmayo y puede sentirse mareado durante y después de la prueba.

- Durante la extracción de sangre venosa que se realizará por la vena ulnar del antebrazo se colocará una pequeña cánula que se mantendrá allí durante las 2 horas de la prueba, realizándose la extracción de sangre cada 30 minutos. Pueden ocurrir moretones en el área donde se extraerá la sangre. También hay un pequeño riesgo de infección, pero esto se minimiza usando procedimientos asépticos. Si durante la prueba usted experimenta debilidad, sudoración, pulso débil, náuseas o otra reacción, debe informar inmediatamente al doctor o a la enfermera. Además, algunos pacientes pueden

llegar tener náuseas y vomitar después de beber la preparación de glucosa. Si esto ocurre durante los primeros 60 minutos que ha comenzado la prueba, ésta será cancelada y tendrá que ser reprogramada. Si esto ocurre después de los 60 minutos, continuar con la prueba. Un técnico capacitado, acreditado para realizar el procedimiento, llevará a cabo esta técnica.

- En las investigaciones basadas en ciencias del deporte, las biopsias musculares han permitido el estudio de los tipos de fibras y las concentraciones de diferentes productos químicos, proteínas y enzimas que el músculo produce como respuesta al ejercicio. En la actualidad las biopsias musculares

han sido una herramienta útil en la medicina y en la investigación en ciencias del deporte para evaluar las adaptaciones moleculares del músculo. Pueden ser útiles en la evaluación de las diferentes proteínas que están relacionadas con diferentes aspectos de las respuestas fisiológicas al entrenamiento, como el crecimiento muscular y la capacidad física. En este estudio se realizará la biopsia muscular con la técnica de Bergstrom (Bergstrom, 1975). Para esto el médico aplicará una anestesia local en la zona de la biopsia (muslo), luego se extraerá una pequeña cantidad de tejido muscular ($\pm 100\text{mg}$), mediante la inserción de una cánula de Bergstrom (diam de 5mm) en el músculo (figura 1).



Los riesgos asociados con este procedimiento son bajos, pero puede ocurrir sangrado y hematoma en la zona de la biopsia, además de una baja probabilidad de infección. Ésta se minimiza mediante el uso de una tórula de algodón con alcohol para limpiar la piel antes de la inserción de la aguja, y el uso de agujas estériles/desechables. Pero si por algún motivo la herida muestra signos de infección como: enrojecimiento, dolor, sensación de fiebre local, sensación de pinchazos, inflamación e hinchazón en los bordes, el paciente debe comunicarse con el médico que realizó la biopsia, para examinar la herida y tomar las medidas de tratamiento adecuadas.

Durante el procedimiento de la biopsia usted podrá experimentar una sensación de tirón o presión y una leve molestia. Después del procedimiento, usted puede sentir dolor y sensibilidad en el muslo similar a un golpe localizado en la pierna. Sin embargo, usted será capaz de llevar a cabo todas sus actividades diarias con normalidad, excepto mojar la herida, durante las primeras 48 horas y no hacer ejercicio físico en las 24 horas posteriores a la realización de la biopsia.

Usted no tendrá ningún beneficio al realizar la biopsia muscular; solamente la investigación se verá favorecida.

V. Costos

Su participación en este estudio no significará ningún costo para usted en la realización de exámenes ni ninguna compensación económica por el tiempo intervenido en el proyecto y tendrá la posibilidad de retirarse en cualquier etapa, si así lo desea.

VI. Compensaciones

Ante cualquier caso de que usted desarrolle algún efecto adverso secundario que nosotros desconozcamos durante su visita, usted será atendido por un médico que se encontrará presente durante las evaluaciones y procederá con el seguimiento de un protocolo de emergencia (*Anexo 4*). Todos los costos serán asumidos por el equipo de investigación.

VII. Confidencialidad de la información

El resultado de todas sus evaluaciones será totalmente confidencial. De acuerdo al cumplimiento del tenor de la Ley 20.584 sobre derechos y deberes de las personas en la atención en salud, Ley de protección de datos personales 19.628 y Ley N°20.120 sobre investigación científica en el ser humano, el genoma y prohibición de la clonación humana. Además, esta investigación se adhiere a la Declaración de Helsinki basado en los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. La información será usada solamente a efectos de contribuir al conocimiento científico y beneficio de la sociedad. Los resultados de este estudio podrán presentarse en conferencias/seminarios y publicados como artículo en alguna revista o en línea, sin embargo, su nombre no será conocido. Usted podrá pedir al investigador una copia de los resultados publicados si así lo quisiera.

VIII. Voluntariedad

Su participación en esta investigación es completamente voluntaria. Usted tiene el derecho a no aceptar participar o a retirar su consentimiento y retirarse de esta investigación en el momento que lo estime conveniente.

Si usted retira su consentimiento, sus muestras (biopsia muscular, sangre, etc) serán eliminadas y la información obtenida no será utilizada.

En caso de que usted estime necesario, durante cualquier etapa del estudio, podrá contactarse con el investigador responsable del proyecto, el Dr. Hermann Zbinden cuyo e-mail de contacto es hzbinden@uft.cl y al teléfono 224207226. La recolección de datos de las evaluaciones antes y después del programa de ejercicio y de las sesiones de entrenamiento estarán a cargo de la alumna Daniela Ávalos Allel y del médico Dr. Hugo Marambio perteneciente a la Escuela de Kinesiología de la Universidad Finis Terrae.

IX. Preguntas

Si tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en una investigación médica, usted puede escribir al correo electrónico cec@uft.cl del Comité Ético Científico, para que el presidente lo derive a la persona más adecuada.

Declaración de Consentimiento

Se me ha explicado el propósito de esta investigación, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.

Firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado a hacerlo.

No estoy renunciando a ningún derecho que me asista.

Se me comunicará de toda nueva información relacionada con el estudio que surja durante la investigación y que pueda tener importancia directa para mi condición de salud.

Se me ha informado que tengo el derecho a reevaluar mi participación en esta investigación según mi parecer y en cualquier momento que lo desee.

Autorizo al investigador responsable y sus colaboradores a acceder y usar el material humano de mi propiedad si el estudio lo amerita.

Al momento de la firma se me entrega una copia firmada de este documento.

Nombre/Firma del participante	Fecha
-------------------------------	-------

Nombre/Firma Investigador	Fecha
---------------------------	-------

Nombre/Firma testigo	Fecha
----------------------	-------

Declaración de Consentimiento (Copia paciente)

Se me ha explicado el propósito de esta investigación, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.

Firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado a hacerlo.

No estoy renunciando a ningún derecho que me asista.

Se me comunicará de toda nueva información relacionada con el estudio que surja durante la investigación y que pueda tener importancia directa para mi condición de salud.

Se me ha informado que tengo el derecho a reevaluar mi participación en esta investigación según mi parecer y en cualquier momento que lo desee.

Autorizo al investigador responsable y sus colaboradores a acceder y usar el material humano de mi propiedad si el estudio lo amerita.

Al momento de la firma se me entrega una copia firmada de este documento.

Nombre/Firma del participante	Fecha
-------------------------------	-------

Nombre/Firma Investigador	Fecha
---------------------------	-------

Nombre/Firma testigo	Fecha
----------------------	-------

Anexo 3. Ficha presentación de paciente participante.

FICHA PACIENTE TLR

Nombre:

Edad:

Fecha ingreso:

Teléfono de contacto:

Teléfono contacto emergencia:

Talla (mts):

Peso (Kg):

IMC (Kg/m²):

Grupo:

Exámenes previos al entrenamiento

Evaluaciones	Fecha	
Consentimiento informado		
Cuestionario médico pre-evaluación		
Cuestionario de aptitud para actividad física (PAR-Q)		
Consumo máximo de oxígeno (VO ₂ max.)		
Biopsia muscular		
Muestra de sangre		

Exámenes médicos	Fecha	
Prueba oral de tolerancia a la glucosa		
Hemograma y VHS		
Perfil Lipídico		

REEMBOLSO EXÁMENES PRE

	Fec	✓
ha		
Monto:		

Exámenes 6º semana (SESION 18)

	Fec	✓
ha		
Consumo de oxígeno máximo (VO ₂ max)		

Exámenes posteriores al entrenamiento

Evaluaciones	Fecha	
Consumo máximo de oxígeno (VO ₂ max.)		
Biopsia muscular		
Muestra de sangre		

Exámenes médicos	Fecha	
Prueba oral de tolerancia a la glucosa		
Hemograma y VHS		
Perfil Lipídico		

REEMBOLSO EXÁMENES POST

	Fec	✓
Monto:	ha	

Nota: en la casilla **fecha** se debe consignar la fecha de recepción del cuestionario o examen.

COMENTARIOS:

Anexo 4. Cuestionario PAR-Q modificado

CUESTIONARIO DE APTITUD PARA ACTIVIDAD FÍSICA (PAR-Q)

Nombre y Apellidos: _____

Edad: _____ Fecha de Nacimiento: ____/____/____ (Día/Mes/Año)

Dirección:

Teléfono: (casa) _____ (móvil) _____

Persona de contacto en caso de urgencia:

¿Cuál es su relación con esta persona?

Teléfono de contacto (móvil) _____ (casa) _____

(trabajo) _____

Lugar de preferencia para traslado en caso de emergencia:

Comentarios:

Por favor lea las siguientes preguntas con cuidado y responda a cada una de ellas de manera honesta. Por favor marque SI o NO según corresponda:

¿Le ha dicho alguna vez su médico que tiene una enfermedad del corazón y que únicamente debe hacer actividad física / ejercicio por un profesional de salud?

SI **NO**

Tiene dolor en el pecho cuando practica alguna actividad física / ejercicio?

SI **NO**

En el último mes, ¿ha tenido dolor en el pecho cuando no estaba haciendo actividad física / ejercicio?

SI **NO**

¿Se siente débil o presenta mareos durante la actividad física / ejercicio que le hace perder el equilibrio?

SI **NO**

¿Tiene algún problema óseo o de articulaciones (por ejemplo, espalda, rodilla o cadera) que podría ser empeorado por un aumento de su actividad física / ejercicio

SI **NO**

¿Está tomando actualmente algún medicamento recetado por su médico para la presión sanguínea o enfermedad del corazón (por ejemplo: diuréticos)?

SI **NO**

¿Tiene alguna otra condición médica (s) que pueden hacer que sea peligroso para usted participar en una actividad física / ejercicio?

SI **NO**

Complete el siguiente recuadro con los nombres de los medicamentos que usted consume de forma regular:

Nombre de el o los medicamentos que usted consume de forma regular	¿Para qué lo utiliza?	¿Desde hace cuánto tiempo utiliza este medicamento?

Anexo 5. Protocolo Astrand modificado Dama

ASTRAND MODIFICADO DAMA

Nombre:

Edad:

Talla:

Peso:

IMC:

FC reposo:

CARGA (W)	TIEMPO (min)	FC (lpm)
0	02:00	
50	04:00	
75	06:00	
100	08:00	
125	10:00	
150	12:00	
175	14:00	

FC max:

VO2max:

Carga(W) de VO2max:

Carga de trabajo en cicloergómetro

65% VO2max	
Carga(W) de 65% VO2max	
65% FCmax	

Anexo 6. Protocolo Astrand modificado Varón

ASTRAND MODIFICADO VARON

Nombre:

Edad:

Talla:

Peso:

IMC:

FC reposo:

CARGA (W)	TIEMPO (min)	FC (lpm)
0	02:00	
50	04:00	
100	06:00	
150	08:00	
200	10:00	
250	12:00	
300	14:00	

FC max:

VO2max:Carga(W) de VO2max:

Carga de trabajo en cicloergómetro

65% VO2max	
Carga(W) de 65% VO2max	
65% FCmax	

Anexo 7. Planilla de registro de entrenamiento

PLANILLA DE ENTRENAMIENTO															
NOMBRE:															
GRUPO:															
TELEFONO CONTACTO:															
VOZMAX:															
65-75% VOZMAX															
N° SESIÓN	FECHA	20 MIN		25 MIN		30 MIN		35 MIN		40 MIN		45 MIN		50 MIN	
		W	FC	W	FC	W	FC	W	FC	W	FC	W	FC		
1			X												
2			X												
3					X										
4							X								
5							X								
6								X							
7									X						
8										X					
9											X				
10												X			
11													X		
12														X	

Anexo 8. Protocolo de seguridad ante evento adverso de salud.

PROCOLO DE SEGURIDAD

OBJETIVO: El presente protocolo tiene por finalidad establecer los pasos a seguir en caso de presentarse una emergencia de salud que afecte participante del estudio.

El siguiente protocolo de emergencias se encontrará visible en la sala de evaluaciones.

PROCEDIMIENTO:

- En caso de que el participante presente algún síntoma que ponga en riesgo su salud durante el procedimiento de biopsia muscular, el médico que se encontraran presente durante las evaluaciones musculares: Dr. Hugo Marambio, evalúa y presta los primeros auxilios.
- Si el médico lo solicita, llamar a **HELP 800800911** (Alumna encargada Daniela Ávalos Allel).
- Si la situación se presenta durante otra etapa de la investigación, la alumna encargada, Daniela Ávalos Allel, se contacta con **HELP 800800911**.
- Llamar a Dirección de infraestructura y servicios generales, Sr. Juan Pablo Arias (anexo 352) o al Sr. Sergio Freire Silva (anexo 682) informar sobre la situación y el lugar de los hechos (persona encargada Hermann Zbinden-Foncea o Daniela Ávalos Allel de no encontrarse el primero).
- Llamar al contacto de emergencia ubicado en la ficha del participante involucrado (Alumna encargada Daniela Ávalos Allel).
- Llamar al jefe responsable de investigación Hermann Zbinden **8 807 83 39** y/o llamar al Director de la Escuela Claudio Villagrán **9 335 66 97** (Alumna encargada Daniela Ávalos Allel).