



Efecto de Diferentes Intervenciones de Ejercicio Físico Agudo Sobre Niveles Plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 en Adultos con Sobrepeso

María Andrea Domínguez Sánchez

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina

Maestría en Neurociencias

Bogotá, Colombia

2017

Efecto de Diferentes Intervenciones de Ejercicio Físico Agudo Sobre Niveles Plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 en Adultos con Sobrepeso

María Andrea Domínguez Sánchez

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Neurociencias

Director:

PhD. Robinson Ramírez Vélez

Codirectora:

Dr. Ret Nat. Rosa Helena Bustos Cruz

Codirector:

MD. Esp. Jairo Alberto Zuluaga Gómez

Línea de Investigación en Neurobiología Celular y Molecular:

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina

Bogotá, Colombia

2017

A Dios:

*Por pelear conmigo las batallas más difíciles,
por enseñarme en medio de la tormenta el
significado de la Fe.*

A mi madre:

*Por tallar en mi alma el significado de la
palabra Fortaleza.*

A mi esposo:

*Por caminar tomado de mi mano, por el amor de
todos los días.*

A mi pequeño ángel:

*Llenaste de ilusión y alegría mis días, me
enseñaste que la vida es creer, luchar y amar, que
las decepciones son breves pero la esperanza es
infinita.*

Por encima de todo, no temas difíciles momentos. El mejor viene de ellos.

-Rita Levi- Montalcini (Nobel de Medicina 1986)
Descubridora del Nerve Growth Factor

Agradecimientos

Al Dr. Robinson Ramírez Velez. *PhD*. Director. Por su constante ejemplo de excelencia académica, por su apoyo en la realización de este proyecto y por su invaluable amistad.

A la Dra. Rosa Helena Bustos Cruz. *PhD*. Codirectora. Por su apoyo incondicional, por sus amables enseñanzas, mi respeto y admiración.

Al Dr. Jairo Alberto Zuluaga. *MD Esp*. Codirector. Por su gentil apoyo y dirección en la realización del proyecto.

Al Dr. Humberto Arboleda. *MD Esp*. Director de la Maestría en Neurociencias de la Universidad Nacional, por su colaboración para el adecuado desarrollo de la investigación.

Al Dr. Jorge Enrique Correa Bautista. *PhD* Director del Centro de Estudios en Medición de la Actividad Física CEMA de la Universidad del Rosario por su amabilidad al abrir las puertas de su centro y facilitar su valioso apoyo para el cumplimiento de esta meta.

Al equipo profesional del CEMA, en especial a Andrés Téllez. *MSc*; Jonathan Peña. *MSc* y Alejandra Tordecilla. *MSc*; por su valiosa colaboración en el proceso de intervención del ensayo clínico.

A la Dra. Viviana Ariza. *PhD* por su asesoría en procedimientos de laboratorio y a la auxiliar Viviana Rincón por su apoyo en la toma de muestras sanguíneas.

A la Universidad de la Sabana: directivas de la Facultad de Enfermería y Rehabilitación por facilitar el tiempo para el desarrollo del proyecto y directivas de la Facultad de Medicina por facilitar los recursos técnicos y humanos del Campus Biomédico en

especial a los miembros del grupo de investigación en Evidencia Terapéutica y al Laboratorio de Farmacología.

Al equipo de BRAINFIT: A la fisioterapeuta Gina Paola Velasco, Licenciada Andrea del Pilar Quintero, Profesor Reynaldo Triana y Licenciado Enrique Hernández, por su excelente trabajo y compromiso, por hacer suya esta idea, por su incansable esfuerzo en cada etapa del proyecto y por su invaluable amistad.

Al Dr. Juan Pablo López Cooper. Presidente de NUTERMIA SAS y a todo su personal por su amable apoyo y por facilitar la tecnología requerida para el procesamiento técnico.

A la fisioterapeuta Magdy Sánchez. *MSc*, por su gentil donación de reactivos además de su constante apoyo y amistad.

Al profesor Carlos Andrés Peña Guzmán. *PhD*, por su apoyo como asesor estadístico del estudio.

A los estudiantes de semilleros de investigación de la Universidad Santo Tomás y la Universidad de La Sabana por apoyar labores logísticas del proyecto.

A los anónimos participantes del ensayo por su participación como sujetos del estudio.

Resumen

En los últimos años, con creciente interés, se ha establecido que la práctica de ejercicio físico conlleva múltiples beneficios funcionales en el sistema nervioso (SN) gracias a su probable influencia sobre la expresión y regulación de factores proteicos neurotróficos y el desencadenamiento de procesos de neuroplasticidad, pero los mecanismos relacionados con estos planteamientos aún no han sido plenamente dilucidados.

Se ha atribuido a los factores neurotróficos o neurotrofinas (NTs) múltiples funciones en el SN, por lo que su regulación se ha relacionado con la ocurrencia de neurodegeneración y procesos de neuroprotección en el tejido nervioso.

Paradigmas investigativos actuales plantean que factores relacionados con el estilo de vida como el sobrepeso, la obesidad y la inactividad física son condiciones predisponentes a la neurodegeneración del tejido nervioso, planteando de esta manera inquietudes acerca del papel que la práctica de ejercicio físico podría jugar en procesos de neuroprotección mediada por mecanismos de secreción de NTs.

Por otra parte, la introducción de metodologías basadas en nanotecnología para la cuantificación de factores proteicos locales y sistémicos en el SN, favorece la ampliación de esta área del conocimiento, estableciéndose como tecnologías con alta sensibilidad y especificidad que minimizan limitaciones de las técnicas convencionales y facilitan procesos de valoración del SN.

PALABRAS CLAVE:

Neuroplasticity, Neurotrophic Factors, Neurotrophins, Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF), Neurotrophin 3 (NT-3), Neurotrophin 4 (NT-4), Exercise, High Intensity Training (HIIT), Resistance Training (RT), Surface Plasmon Resonance (SPR), Nanotechnology, Overweight, Obesity, Young, Male

Abstract

In recent years, with increasing interest, it has been established that the practice of physical exercise carries multiple functional benefits in the nervous system (NS) due to its likely influence on the expression and regulation of neurotrophic protein factors and the triggering of neuroplasticity processes but the mechanisms related to these approaches have not yet been fully elucidated.

Neurotrophic factors or neurotrophins (NTs) have been attributed to multiple functions in the NS, so their regulation has been linked to the occurrence of neurodegeneration and neuroprotection processes in nerve tissue. Current research paradigms suggest that lifestyle factors such as overweight, obesity and physical inactivity are predisposing conditions to neurodegeneration of nervous tissue, thus raising concerns about the role that physical exercise could play in processes Of neuroprotection mediated by NTs secretion mechanisms.

On the other hand, the introduction of methodologies based on nanotechnology for the quantification of local and systemic protein factors in the SN, favors the expansion of this area of knowledge, being established as technologies with high sensitivity and specificity that minimize limitations of the conventional techniques and facilitate processes of SN assessment.

KEY WORDS:

Neuroplasticity, Neurotrophic Factors, Neurotrophins, Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF), Neurotrophin 3 (NT-3), Neurotrophin 4 (NT-4), Exercise, High Intensity Training (HIIT), Resistance Training (RT), Surface Plasmon Resonance (SPR), Nanotechnology, Overweight, Obesity, Young, Male

Contenido

	<u>Pág.</u>
Resumen	IX
Lista de figuras	XIII
Lista de tablas	XIV
1. Marco Referencial	1
1.1 Definición del Problema.....	¡Error! Marcador no definido.
1.2 Planteamiento del Problema.....	1
2. Objetivos	¡Error! Marcador no definido.
2.1 Objetivo General.....	9
2.2 Objetivos Específicos	9
3. Marco Teórico	10
3.1. Neurotrofinas.....	10
3.1.1. Síntesis y Secreción de Neurotrofinas.....	11
3.1.2. Receptores de Neurotrofinas.....	14
3.1.3. Vías de señalización activadas por Neurotrofinas	15
3.1.4. Funciones de las Neurotrofinas.....	17
3.1.5. Regulación Neurotrófica del peso corporal, balance energético y obesidad	19
3.1.6. Neurotrofinas y ejercicio.....	22
3.2 Biosensores: Plasmón de Resonancia de Superficie.....	25
4. Metodología	¡Error! Marcador no definido.
4.1 Tipo y diseño del estudio.....	30
4.2 calculo de la muestra	30
4.3 Fase clínica.....	31
4.3.1 Vinculación y selección de la población.....	31
4.3.2 Medición de la línea de base	31
4.3.3 Metodos de cegamiento y aleatorización	35
4.3.4 Intervención.....	36
4.3.5 Toma de muestras.....	40
4.4. Fase Análítica.....	41
4.4.1 Separación y Conservación de plasma.....	41
4.4.2. Metodología de cuantificación por biosensor de SPR.....	42
4.5 Software y Análisis Estadístico.....	47
4.6 Consideraciones éticas.....	48
5. Resultados y Discusión	510
5.1 Metodología de cuantificación por SPR de NTs en plasma humano.....	50

XII Efecto de Diferentes Intervenciones de Ejercicio Físico Agudo sobre Niveles Plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 en Adultos con Sobrepeso

5.1.1 Ensayo de preconcentración.....	50
5.1.2 Inmovilización	53
5.1.3. Calibración	53
5.2. Efecto del ejercicio sobre niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4	57
6. Conclusiones y recomendaciones	66
A. Anexo: Logo del estudio	667
B. Anexo: Material Publicitario.....	698
C. Anexo: Consentimiento Informado.....	69
Bibliografía	75

Lista de Figuras

Capítulo 3

Figura 3.1 Síntesis y secreción de Neurotrofinas

Figura 3.2 Unión de Neurotrofinas a Receptores

Figura 3.3. Vías de señalización de Neurotrofinas

Figura 3.4. Componentes de un experimento en SPR

Capítulo 4.

Figura 4.1 Protocolo de Ejercicio HIIT

Figura 4.2 Protocolo de Entrenamiento en Resistencia

Figura 4.3 Protocolo de Obtención y Almacenaje de Plasma

Capítulo 5.

Figura 5.1 Ensayo de Preconcentración

Figura 5.2 Inmovilización de Anticuerpos

Figura 5.3 Curva de Calibración NT-3

Figura 5.4 Curva de Calibración BDNF

Figura 5.5 Curva de Calibración NT-4

Figura 5.6 Diagrama de Flujo del Estudio

Figura 5.7 Cambios en las concentraciones plasmáticas de BDNF y NT-4

Lista de Tablas

Capítulo 3

Tabla 3.1 Familia de Neurotrofinas

Capítulo 4.

Tabla 4.1 Criterios de inclusión/exclusión

Tabla 4.2 Anticuerpos y proteínas

Tabla 4.3 Identificación de reactivos

Tabla 4.4 Agentes de regeneración de la matriz

Capítulo 5.

Tabla 5.1 Condiciones óptimas ensayo de preconcentración

Tabla 5.2 Características de los participantes

Tabla 5.3 Análisis por intención de tratar de BDNF, NT-3 y NT-4

1. Marco Referencial

1.1. Definición del Problema

Las neurotrofinas (NTs) son un grupo de proteínas que han sido descritas como promotoras de neuroplasticidad en el Sistema Nervioso (SN) tanto a nivel cerebral (Waterhouse & Xu, 2009) como en la médula espinal (Huie et al., 2012). Se les ha atribuido un importante papel en procesos de comunicación, crecimiento y diferenciación celular, así como en la neuroprotección y neuroplasticidad del SN adulto y en desarrollo (Lewin & Carter, 2014; Verhovshek, Rudolph, & Sengelaub, 2013).

Se ha reconocido que mecanismos como la inhibición de la síntesis, disminución de la expresión de receptores y bajos niveles plasmáticos de estas proteínas se relacionan con la presencia de enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y Parkinson (da Silva, Domingues, de Carvalho, Allodi, & Correa, 2016; Siegel & Chauhan, 2000) desórdenes del espectro autista y síndrome de Rett (Theoharides, Athanassiou, Panagiotidou, & Doyle, 2015) síndrome afectivo bipolar (Scola & Andreatza, 2015), depresión (Neto, Borges, Torres-Sanchez, Mico, & Berrocoso, 2011) trastornos alimentarios (Mercader et al., 2008) síndrome metabólico (Błaszczuk & Gawlik, 2016) y obesidad (George N Chaldakov, Fiore, Hristova, & Aloe, 2003; Skledar et al., 2012) describiendo su importancia en la fisiopatología de múltiples condiciones neurológicas y neuroendocrinas.

Si bien se ha caracterizado a las NTs como factores que participan en una amplia variedad de funciones neurales también se ha caracterizado su participación en procesos neuroendocrinos como la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico. Determinándose a partir de modelos animales que proteínas de la familia de NTs como el Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) toman parte en la regulación del peso corporal y el gasto energético (Lapchak & Hefti, 1992; Pellemounter, Cullen, & Wellman, 1995) planteando que el aumento de esta proteína disminuye significativamente la ingesta de alimentos, mejora la tolerancia a la glucosa y el metabolismo de los lípidos aún en animales obesos y diabéticos (Hanyu et al., 2003; Nakagawa et al., 2002; Tsuchida et al.,

2002). Los estudios en humanos plantean hipótesis que correlacionan inversamente niveles plasmáticos de BDNF con la edad y el peso corporal (Lommatzsch et al., 2005; Ziegenhorn et al., 2007) y que proponen que la deficiencia de factores neurotróficos tiene relación con la enfermedad coronaria y el síndrome metabólico (G. N. Chaldakov et al., 2001) principalmente en procesos de hiperalimentación que se relacionan con la ingesta calórica y la regulación neuroendocrina (Błaszczuk & Gawlik, 2016), aunque los resultados son controversiales y requieren estudiarse con mayor amplitud.

Debido a sus características y su importante rol en el SN, las NTs son consideradas en la actualidad como uno de los tratamientos farmacológicos más promisorios en la prevención y tratamiento de enfermedades neurodegenerativas que afectan el SN (Kubo, 2015; Weissmiller & Wu, 2012) reportándose protocolos experimentales que hacen uso de la aplicación intravenosa, intraventricular e intramuscular de NTs (Duricki, 2012; Galvin & Oorschot, 2003; Ramekers, Versnel, Klis, Grolman, & Strahl, 2015) y la modulación de la expresión de sus receptores (Nordvall & Forsell, 2014) que han demostrado efectos potenciales en la neuroprotección y neurorestauración del SN aunque con una aplicación farmacoterapéutica limitada debido a su baja estabilidad plasmática, pobre farmacocinética, restricción para atravesar la barrera hematoencefálica (Skaper, 2012) difusión restringida en el parénquima del SNC y las acciones pleiotrópicas que se derivan de su unión concomitante con múltiples receptores (Longo & Massa, 2013) planteando la necesidad de estrategias de producción endógena de NTs que faciliten su potencial uso terapéutico.

Existe en la actualidad amplia evidencia que soporta que el ejercicio físico es un agente modulador de la síntesis y expresión de neurotrofinas y promotor de procesos de neurogénesis, sinaptogénesis y angiogénesis en el tejido nervioso (Hötting & Röder, 2013) con explicaciones que van desde el aumento de la producción de NTs como el BDNF en poblaciones neuronales a nivel del hipocampo en ratas (A. M. Huang et al., 2006), aumento de la expresión de receptores TrK y p75^{NTR} en el tejido nervioso y en otros tejidos (Chung, Kim, Kim, & Bang, 2013), aumento de los niveles plasmáticos posterior a la exposición aguda y crónica al ejercicio en humanos (Szuhany, Bugatti, & Otto, 2015), efectos positivos sobre la función cognitiva y el estado emocional (Fernandes, Arida, & Gomez-Pinilla, 2017) y correulación del metabolismo de los lípidos

y la glucosa (Yeong Geun Kim & Hyun Jun Kim, 2013). Se reportan también estudios en modelos animales que establecen que el ejercicio físico tiene efectos en la expresión de otras NTs como el Nerve Growth Factor (NGF)(Hong, Lee, & Kim, 2015) la Neurotrophin-3 (NT-3) y la Neurotrophin-4/5 (NT-4) tanto en el SN como en otros tejidos como el muscular (Chung et al., 2013; Ying, Roy, Edgerton, & Gómez-Pinilla, 2003) aunque sus mecanismos y efectos no se explican ampliamente.

Otros planteamientos también relacionan la inactividad física con el aumento del tejido adiposo y su efecto en el SN planteando que el comportamiento sedentario, el sobrepeso y la obesidad son factores predisponentes al daño del tejido nervioso debido a la concomitancia de inflamación crónica de bajo grado y resistencia a la insulina (Nimwegen et al., 2011; Spielman, Little, & Klegeris, 2014; Vikdahl, Carlsson, Linder, Forsgren, & Håglin, 2014) conllevando a procesos de neurodegeneración que podrían explicar en parte la fisiopatología de algunas enfermedades neurodegenerativas.

Los métodos de análisis reportados para este grupo de proteínas y sus receptores son muy variados y van desde metodologías moleculares como RT PCR, Northern Blotting (James M. Conner, 2001) hasta inmunoensayos de tipo ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), RIA (Radioimmunoassay) y FIA (Fluorescent Immunoassay) como metodologías convencionales, implicando grandes periodos de incubación, pretratamiento, lavados y uso de marcadores y que no permiten la obtención de resultados en tiempo real, representando extensión en tiempo y condiciones complejas de trabajo de laboratorio con baja sensibilidad y reproducibilidad. (Zhang, Zhou, Deng, & Rush, 1999; Zhang, Zhou, & Rush, 2001)

En el ámbito nacional el estudio del ejercicio físico y sus efectos sobre marcadores séricos de poblaciones sanas y con condiciones de salud como la obesidad y el sobrepeso ha motivado líneas de investigación en el campo. Tal es el caso de trabajos desarrollados desde la Maestría en Fisiología de la Universidad Nacional de Colombia sobre ejercicio y marcadores hormonales (Argüello Gutiérrez & Mockus Sivickas, 2011), ejercicio y marcadores séricos en diabetes tipo II (Gómez & Mockus Sivickas, 2016) y la Maestría en Actividad Física y Salud de la Universidad del Rosario en estudios sobre ejercicio y marcadores del metabolismo lipídico y función endotelial (R. Ramírez-Vélez,

2011; R. Ramírez-Vélez, Aguilar, & Mosquera, 2009; R. Ramírez-Vélez, Aguilar de Plata, & Escudero, 2011; Ramírez-Velez, Aguilar de Plata, & Hernán Ramirez, 2010; Robinson Ramírez-Vélez et al., 2016a).

Así mismo, la utilización de tecnologías basadas en biosensores para la medición de biomarcadores proteicos en diversas aplicaciones clínicas y experimentales, también ha sido un campo de reciente interés en el país. Investigaciones de la Universidad de La Sabana y Universidad Nacional, han sido pioneras en el campo desde los grupos de investigación en Evidencia Terapéutica e Ingeniería de Tejidos (Bustos, Suesca, Millán, González, & Fontanilla, 2014; González Carreño, Fontanilla Duque, & Bustos Cruz, 2011). Así mismo desde la Maestría en Neurociencias de la Universidad Nacional, se ha planteado recientemente, el papel de las NTs en el tejido nervioso y su expresión celular en modelo animal, mediante la cuantificación proteica con el uso de biosensores (Sanchez Molina, 2016a)

El panorama descrito anteriormente permite sustentar como base del presente estudio que: *i)* las neurotrofinas son factores proteicos clave en procesos de desarrollo, neuroprotección y neuroplasticidad cerebral; *ii)* su deficiencia se relaciona con la ocurrencia de enfermedades neurodegenerativas; *iii)* participan en la fisiopatología de la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico; *iv)* son consideradas una promesa terapéutica pero su aplicación exógena es limitada; *v)* el ejercicio físico promueve la producción endógena de neurotrofinas y *vi)* los métodos convencionales disponibles para su cuantificación presentan algunas limitaciones y no permiten la obtención de resultados en tiempo real.

1.2. Planteamiento del problema

Las enfermedades crónicas y degenerativas del SN y las enfermedades cardiovasculares representan las principales causas de morbilidad y mortalidad de la población a nivel mundial (OMS, 2015). La mayor parte de la etiología de las enfermedades neurodegenerativas permanece desconocida, aunque se le ha atribuido en la última

década a un conjunto de factores tanto genéticos como ambientales, en los que el estilo de vida juega un papel importante en la predisposición a la enfermedad (N. B. Johnson et al., 2014).

Establecer un panorama mundial de las enfermedades neurodegenerativas es difícil debido a la insuficiencia de datos epidemiológicos globales y al amplio grupo de enfermedades que son cobijadas bajo esta denominación, aunque se estima que los trastornos neurológicos afectan aproximadamente a 1000 millones de personas en todo el mundo (OMS, 2006). La característica común de este grupo de patologías es la *neurodegeneración*, definida como una pérdida progresiva de la estructura y/o de la función de las células del tejido nervioso, incluyendo su muerte, la cual puede ser heredada, debida a una lesión o adquirida durante o después del nacimiento (Ahmad, 2012; Bredesen, Rao, & Mehlen, 2006).

Se estima que aproximadamente 46,8 millones de personas en todo el mundo padecieron demencia en el 2015 y que esta cifra se duplicará hasta los 74,7 millones en 2030, y los 131,5 millones en 2050, representando un costo estimado total de 818 millones de dólares, para países como EEUU (Prince, 2015). La incidencia y prevalencia mundial de la enfermedad de Parkinson por ejemplo, se situaría entre 41 a 1903 por 100.000 habitantes, con una prevalencia de 1601 en habitantes de Norte América, Europa y Australia comparados con 646 en Asia (Pringsheim, Jette, Frolkis, & Steeves, 2014) y debido al envejecimiento de la población, la prevalencia de estas enfermedades en los países más poblados del mundo se duplicará en los próximos 20 años.

El actual estilo de vida caracterizado por la inactividad física y pobres hábitos dietarios han conllevado a un dramático declive de la salud de la población latinoamericana (Herrán, Patiño, & Del Castillo, 2016). La disminución de la práctica de actividad física y el comportamiento sedentario –combinado con malos hábitos alimenticios- ha sido implicado como un factor potencialmente contribuyente a la crisis de obesidad (Kohl, Craig, & Lambert, 2012). Además, la inactividad física es el cuarto factor contribuyente a la mortalidad mundial (Eyben, Mouritsen, & Holm, 2003). El exceso de adiposidad está

relacionado con el desarrollo de enfermedades crónicas como hipertensión, desordenes metabólicos, demencia y neurodegeneración (Cai, 2013; Eyben et al., 2003; Keum, Lee, Kim, Greenwood, & Giovannucci, 2015; Luna-Luna et al., 2015) mediado por el exceso del consumo energético versus un gasto calórico insuficiente (Martin et al., 2016).

El impacto de las enfermedades neurodegenerativas se extiende a las secuelas estructurales y funcionales, estableciéndose la neuroprotección y neurorestauración como aspectos de amplio interés investigativo, considerándose que aspectos relacionados con la epigenética de las enfermedades neurológicas (Urduingio, Sanchez-Mut, & Esteller, 2009), así como la traslación de los hallazgos de estudios experimentales a estudios clínicos podrían ser pilares del tratamiento y la prevención de estas patologías (Ehrenreich, 2004).

La identificación del rol del género, el estilo de vida, la práctica de hábitos relacionados con la dieta y la actividad física, así como su relación con los factores genéticos y biológicos también se establece como un área de interés en la prevención y tratamiento en las enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares (Watson & Killgore, 2017). Es así como estudios recientes en el campo de la neuroendocrinología y la inmunología han determinado paradigmas relacionados con el papel que la obesidad y el sobrepeso secundarios a una alta ingesta calórica y la inactividad física, tienen en la inducción de procesos de neuroinflamación que contribuyen a la neurodegeneración como un componente patológico importante en las disfunciones degenerativas del SN (Cai, 2013; Spielman et al., 2014).

Por otra parte, son ampliamente conocidos los beneficios que la práctica frecuente de actividad física conlleva, no solo en el bienestar físico y emocional, sino también sobre diversos procesos metabólicos, secretores y funcionales en el SN, en los que la producción de NTs juega un papel clave. El ejercicio físico estudiado en modelos animales y en humanos ha demostrado incrementar la tasa de respiración mitocondrial;

aumentar el consumo de oxígeno cerebral; promover la síntesis y secreción de NTs (en especial el BDNF) incrementando sus niveles plasmáticos, estimular la función de la corteza cerebral, mejorar la memoria y la función ejecutiva, entre otros (T. Huang, Larsen, Ried-Larsen, Møller, & Andersen, 2014a; Hwang et al., 2016; Piepmeier & Etnier, 2015).

Lo anterior permitió establecer bajo los planteamientos descritos en el capítulo 1 y teniendo en cuenta que el ejercicio promueve la producción de NTs como un posible mecanismo de neuroplasticidad y neuroprotección, una propuesta investigativa que se dirigió a abordar los siguientes problemas de investigación:

- i) No hay ensayos clínicos controlados que midan los efectos de diferentes intensidades de ejercicio físico en etapa aguda en NTs no reportadas convencionalmente como la NT-3 y NT-4.
- ii) Ausencia de exploración del comportamiento dosis-efecto del ejercicio agudo y las NTs en poblaciones con perfil de riesgo metabólico;
- iii) No se ha utilizado ampliamente la nanotecnología como método de alta sensibilidad en la cuantificación proteica de tejido sanguíneo extraído *in vivo*.

Por lo anterior, la pregunta de investigación que se planteó el presente estudio fue:

¿Existen diferencias en los niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 como efecto de la práctica de tres intensidades de ejercicio físico agudo en hombres con sobrepeso, cuantificados mediante el uso de un nanobiosensor tipo plasmón de resonancia de superficie?

Se estableció como hipótesis que:

Diferentes intensidades de ejercicio físico agudo: High Intensity Interval Training (HIIT); Resistance Training (RT) y Protocolo Combinado (HIIT+RT) generan cambios en la concentración plasmática de BDNF, NT-3 y NT-4 en hombres jóvenes inactivos con sobrepeso, lo cual puede indicar que la práctica de ejercicio aún en etapa aguda podría

ser un factor promotor de neuroprotección y neuroplasticidad en poblaciones en riesgo cardiometabólico.

En complemento a esta hipótesis este proyecto también planteó que:

La nanotecnología, específicamente el biosensor por plasmón de resonancia de superficie (SPR), es una tecnología de medición en tiempo real, altamente sensible y aplicable como metodología de evaluación de neurotrofinas en plasma humano.

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Determinar el efecto de diferentes intervenciones de ejercicio físico agudo sobre niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 en adultos jóvenes, inactivos con sobrepeso, mediante la aplicación de la tecnología de biosensor por SPR.

2.2. Objetivos Específicos

- 2.2.1 Desarrollar la metodología de cuantificación de los niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 mediante biosensor por SPR
- 2.2.2 Evaluar el efecto del HIIT sobre niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4.
- 2.2.3 Evaluar el efecto del RT sobre niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4.
- 2.2.4 Evaluar el efecto del protocolo combinado (HIIT+RT) sobre niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4.

3. Marco Teórico

3.1. Neurotrofinas

Desde el descubrimiento y descripción del Nerve Growth Factor (NGF) por Levi-Montalcini, Cohen y Hamburger en estadios tempranos del desarrollo en embriones de pollo (Aloe, 2004; Hamburger, 1934, 1939; Hamburger & Levi-Montalcini, 1949; Levi-Montalcini & Hamburger, 1953) las NTs (también denominadas *factores neurotróficos* o *factores de crecimiento neuronal*) han sido descritas como un grupo de proteínas propias del SN a las que se les atribuye la regulación de mecanismos moleculares en la comunicación, crecimiento y diferenciación neuronal durante el desarrollo y en procesos de neuroplasticidad, memoria, aprendizaje, estimulación/síntesis de neurotransmisores y neuropéptidos, protección neuronal ante el daño degenerativo y homeostasis celular en el SN adulto (Lewin & Carter, 2014).

Se han identificado en el SN de aves, reptiles, peces, mamíferos con algunas variaciones y en el humano se describen como una familia de cuatro proteínas diméricas estructuralmente similares (Lewin & Barde, 1996) denominadas: 1) *Nerve Growth Factor (NGF)* (Hamburger, 1934, 1939; Hamburger & Levi-Montalcini, 1949; Levi-Montalcini & Hamburger, 1953) 2) *Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF)* (Barde, Edgar, & Thoenen, 1982) 3) *Neurotrophin 3 (NT-3)* (FURTH, RONALD, & GEORGE, 1990; Hohn, Leibrock, Bailey, & Barde, 1990) y 4) *Neurotrophin 4/5* (Berkemeier et al., 1991; Ip et al., 1992), esta última con doble nomenclatura debido a su identificación inicial en peces y posteriormente en mamíferos, comúnmente denominada como NT-4 (Lewin & Carter, 2014). En reportes recientes de la literatura se registran dos miembros más de esta familia: *Neurotrophin 6 (NT-6)* y *Neurotrophin 7 (NT-7)* descritas como una subfamilia presente únicamente en peces (GÃ et al., 1994; Nilsson, Fainzilber, Falck, & Ibáñez, 1998). La Tabla 3-1 presenta la familia de NTs y sus características.

Tabla 3-1. Familia de Neurotrofinas

Denominación		Especie	Nomenclatura	Peso Molecular NT Precursora	Peso Molecular NT Madura
Nerve Growth Factor	<i>Factor de Crecimiento Nervioso</i>		<i>NGF</i>	26 KDa	13 KDa
Brain Derived Neurotrophic Factor	<i>Factor Neurotrófico Derivado Cerebral</i>	Humano, aves, reptiles, mamíferos, peces	<i>BDNF</i>	26 KDa	13 KDa
Neurotrophin 3	Neurotrofina 3	Humano, aves, reptiles, mamíferos, peces	<i>NT-3</i>	26 KDa	13 KDa
Neurotrophin 4/5	Neurotrofina 4/5		<i>NT-4/5</i> <i>NT-4</i>	20 KDa	13 KDa
Neurotrophin -6	Neurotrofina 6	Peces Peces	<i>NT-6</i>	26 KDa	13 KDa
Neurotrophin- 7	Neurotrofina 7		<i>NT-7</i>	26 KDa	13 KDa

Fuente: Autora

3.1.1. Síntesis y Secreción de NTs

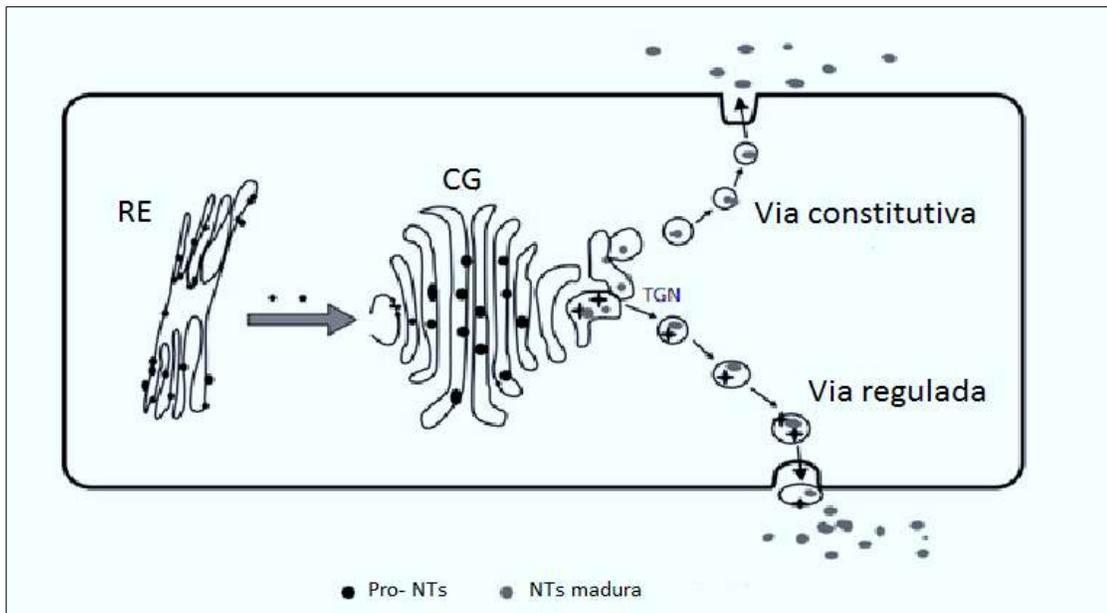
Los genes que codifican para las neurotrofinas se cree que provienen de la duplicación de un gen ancestral único y en humanos se han diseminado en los cromosomas 1, 11, 12 y 19 para los genes NGF, BDNF, NT-3 y NT-4/5, respectivamente (Hondermarck, 2012). La síntesis de las neurotrofinas se realiza por las células nerviosas y neuroendocrinas a partir de una forma precursora caracterizada por dímeros no covalentes con dominios N-terminal denominados *proneurotrofinas* (proNTs) al interior del retículo endoplasmático rugoso y cuyo peso molecular es de ~20 KDa para la proteína precursora de NT-4 y de ~26 KDa para las demás formas precursoras (Hondermarck, 2012; Leßmann &

Brigadski, 2009; Lewin & Carter, 2014; Lim, Lim, & Federoff, 2003).

Las proNTs se someten a modificaciones postraduccionales a través del complejo Golgi (CG) y de la red trans-Golgi (TGN) por la acción de proteasas celulares como la *furina* y la *proconvertasa* (Seidah, Benjannet, Pareek, Chrétien, & Murphy, 1996) o por proteasas extracelulares como *plasmina*, *MMP-3* y *MMP-7* promoviendo la forma madura de la proteína a través de la adhesión de una secuencia polipeptídica adherida al dominio N terminal (Hondermarck, 2012). Las NTs maduras consisten en dímeros de proteína de ~13 KDa de peso molecular que son almacenadas al interior de las células nerviosas en forma de vesículas o como gránulos secretores (Bradshaw, Blundell, Lapatto, McDonald, & Murray-Rust, 1993; Leßmann & Brigadski, 2009; Seidah et al., 1996) que posteriormente se transportan vía anterógrada o retrógrada hasta las regiones somato-dendríticas y axonales para su secreción local en las terminales presináptica y postsináptica (Leßmann & Brigadski, 2009).

Como se esquematiza en la Figura 3.1 la secreción de las NTs se realiza predominantemente por dos vías: *la vía constitutiva* o permisiva: consistente en la liberación espontánea de la proteína almacenada en las vesículas mediante un proceso de fusión con la membrana celular y *la vía regulada* o instructiva en la que las NTs acumuladas en gránulos secretores son liberadas como respuesta ante un estímulo específico (Lim et al., 2003). Si bien estos mecanismos son mayoritariamente descritos en la literatura como formas de secreción de las NTs también se han reportado otros en los que el procesamiento vesicular es incompleto conllevando a la secreción de proNTs a partir de las cuales se sintetizan a nivel extracelular las formas maduras en presencia de *plasmina* y *metaloproteinasas de matriz* (Lee, Kermani, Teng, & Hempstead, 2001).

Figura 3-1. Síntesis y Secreción de NTs



Fuente: (Bathina & Das, 2015)¹

Para cada neurotrofina los mecanismos de secreción son diferentes; así el BDNF es secretado por las neuronas por vía constitutiva y regulada, (Blondel et al., 2000; Leßmann & Brigadski, 2009; Lim et al., 2003), mientras que la secreción de NT-3 se dirige predominantemente por la vía regulada (Brigadski, Hartmann, & Lessmann, 2005a; Lessmann, Gottmann, & Malcangio, 2003; Wu et al., 2004). La NT-4 y el NGF se almacenan en vesículas y gránulos de secreción en el SNC y en células neuroendocrinas indicando mecanismos en las dos vías (Brigadski et al., 2005a; Lessmann, Gottmann, & Malcangio, 2003; Wu et al., 2004) con predominio de la vía constitutiva (Brigadski et al., 2005a).

La secreción de las NTs también es variable según la región del SN y puede estar influenciada por su interacción con otras NTs y con las formas precursoras, por ejemplo, en la región del hipocampo no se observa en las neuronas NT-3 almacenado, pero en

¹ Esquematización de los procesos de síntesis y secreción neuronal de neurotrofinas. RE: Retículo Endoplasmático; CG: Complejo Golgi; TGN: Red Trans Golgi; NTs: Neurotrofinas. (Bathina & Das, 2015)

esta región se registra amplia secreción de BDNF lo que sugiere la coexpresión de BDNF y NT-3 como mecanismo regulador en esta población neuronal (Brigadski, Hartmann, & Lessmann, 2005b; Leßmann & Brigadski, 2009; Lim et al., 2003). También para la secreción del BDNF se han reportado mecanismos en los que el prodominio es guardado en vesículas densas y secretado conjuntamente con el BDNF maduro (Dieni et al., 2012) desconociéndose hasta ahora la función que llevan a cabo estos procesos.

3.1.2 Receptores de NTs

Se ha identificado que las NTs desempeñan diversas funciones vitales para las células nerviosas y que interactúan con células no nerviosas mediante su unión a dos tipos principales de receptores celulares específicos: la familia de receptores Tirosin Quinasa (TrK) y el Receptor de Neurotrofinas p75 (p75^{NTR}) miembro de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral (TNF) (Hennigan, O'callaghan, & Kelly, 2007; Kaplan & Miller, 2000).

Estos dos receptores pueden estar presentes simultáneamente en la célula, funcionar independientemente y tener efectos paradójicos dependiendo la vía de activación desencadenada (Kaplan & Miller, 2000). Las diversas uniones a receptores, las vías de activación que desencadenan y las interacciones entre estos receptores son características que determinan una gran complejidad en la fisiología de las NTs e influyen la versatilidad de sus funciones, es así que en neuronas que expresan receptores TrK y p75 ocurren interacciones físicas y funcionales en formas que pueden alterar las propiedades de señalización de cada una (Skaper, 2012)

Se ha establecido que las NTs maduras establecen uniones preferentes con subtipos de receptores TrK. De esta manera el NGF se une con el receptor TrKA, el BDNF y la NT-4 con TrKB y la NT-3 con el TrkC (Kaplan & Miller, 2000; Lim et al., 2003). Hay reporte que las pro NTs también pueden establecer uniones con la Proteína Vacuolar Sorting 10 (VPS10) miembro de la familia del *sortilin* (también conocido como NRT3) (Longo & Massa, 2013) y el NOGO aunque estas son vías de activación que no son predominantes (Hondermarck, 2012). Con respecto al receptor p75^{NTR} todas las cuatro NTs maduras se unen a él mediante uniones de baja afinidad y se ha establecido recientemente que las

proNTs establecen uniones de alta afinidad (Lee et al., 2001) (Figura 3.2). A su vez el p75^{NTR} tiene la capacidad de influenciar interacciones de las NTs con otros receptores como el TrK, el VPS10 y el NOGO incrementando su afinidad, asistiendo en la discriminación del ligando y activando vías de proteínas mediadores de la familia de las Ceramidas, Quinasas y Caspasas (Hennigan et al., 2007)

En mayor proporción las NTs tienen como células blanco neuronas en el SNC pero pueden señalizar en otras regiones y tejidos ya que estos receptores son expresados por una variedad de neuronas y células de la glía en el SN central y periférico y en diversos tipos celulares somáticos (Hennigan et al., 2007; Hondermarck, 2012; Skaper, 2012).

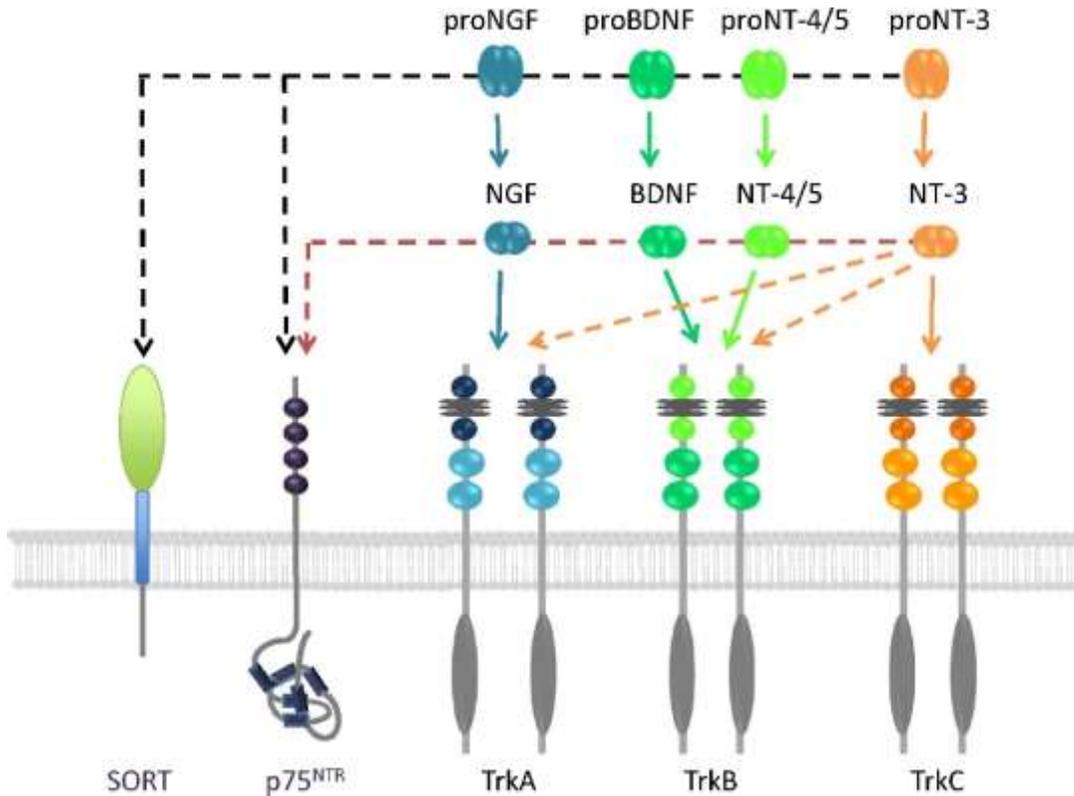
Por lo anterior se afirma que las NTs tienen un amplio campo de funciones biológicas determinado por la expresión celular de estos receptores (Naito, Lee, & Takahashi, 2017) pero a su vez no es posible generalizar o limitar estas funciones puesto que las NTs y sus cuatro receptores pueden mediar funciones muy diferentes y en algunos casos tener respuestas celulares opuestas como la supervivencia y muerte celular (Bothwell, 2014). Se considera por ejemplo que BDNF y NT-4 podrían presentar redundancias funcionales en los mamíferos, gracias a sus unión común con TrKB mientras que se ha establecido que en ocasiones la NT-3 establece uniones promiscuas con otros miembros de los receptores TrK en especial el TrKA pero sin representar equivalencias funcionales con el NGF (Hondermarck, 2012; Skaper, 2012). Se esquematiza en la figura 3.2 las uniones preferentes e interacciones de estos receptores.

3.1.3 Vías de señalización activadas por las NTs.

Son múltiples las vías de señalización activadas por la unión de las NTs a los receptores TrK y p75^{NTR}. Con respecto a TrK se incluyen tres vías principales mediadas por las quinasas: Quinasas activadas por Mitógenos (MAPK) (Longo & Massa, 2013; Thomas, DeMarco, D'Arcangelo, Haleboua, & Brugge, 1992), Fosfoinositol 3- Quinasa (PI3K) (Atwal, Massie, Miller, & Kaplan, 2000; Longo & Massa, 2013) y la Fosfolipasa C gamma 1 (PLCG1) (Longo & Massa, 2013; Vetter, Martin-Zanca, Parada, Bishop, & Kaplan,

1991) y vías de las proteínas Ras y Rac (E. J. Huang & Reichardt, 2003).

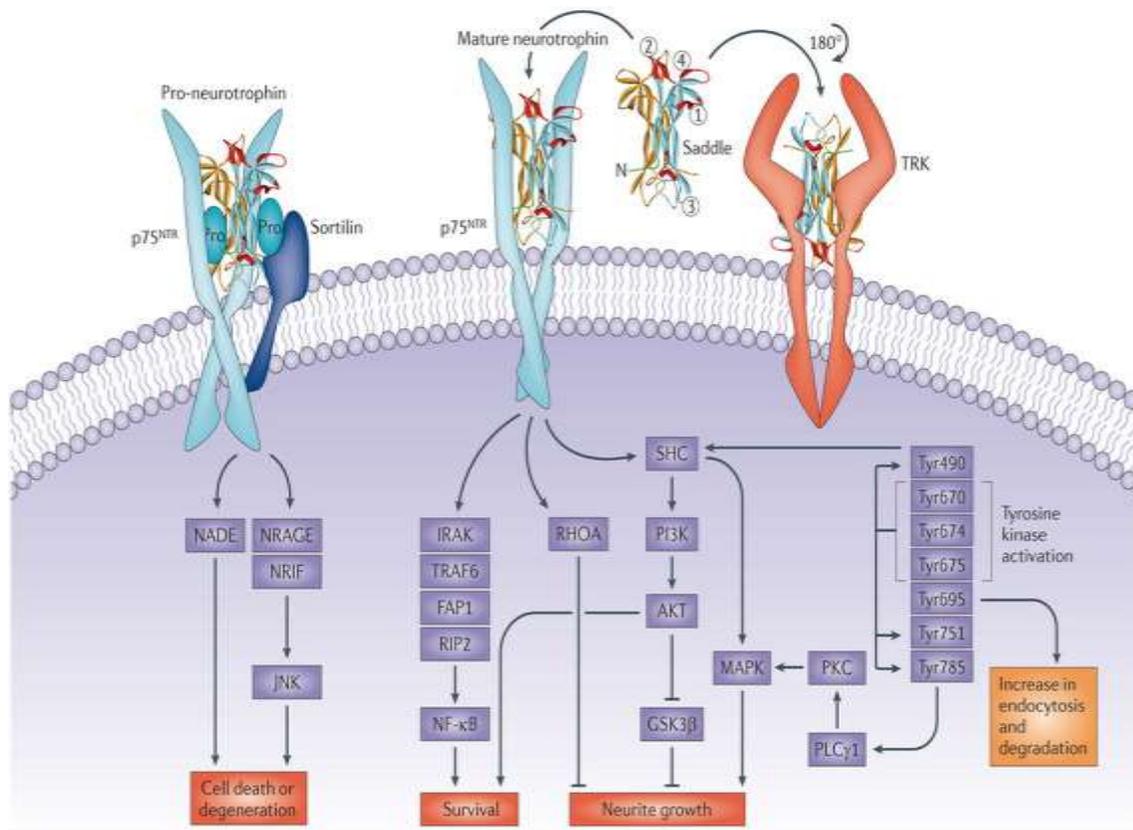
Figura 3-2. Unión de las Neurotrofinas a Receptores



Fuente: (Hondermarck, 2012)

Con relación a las vías de señalización por la unión de las NTs con $p75^{NTR}$ se incluyen: la vía de las Ceramidas (Dobrowsky, Werner, Castellino, Chao, & Hannun, 1994), el Factor Nuclear κB (NF- κB) (Carter et al., 1996), Proteína Quinasa N (AKT) (Lessmann, Gottmann, & Malsangio, 2003), Quinasas c-jun N-terminal (JNK) (Casaccia-Bonnel, Carter, Dobrowsky, & Chao, 1996), PI3K (Roux, Bhakar, Kennedy, & Barker, 2001), MAPK (Volonté, Angelastro, & Greene, 1993), Cisteína Proteasas o Caspasas, Factor Inducible por Hipoxia (HIF) (Le Moan, Houslay, Christian, Houslay, & Akassoglou, 2011) Proteína Quinasa dependiente de AMP (PKA) y RHOA (Sachs et al., 2007). Se presenta esquemáticamente estas vías de señalización en la figura 3.3.

Figura 3.3. Vías de Señalización de NTs



Fuente: (Longo & Massa, 2013)

3.1.4. Funciones de las NTs.

En concordancia con la “Hipótesis Neurotrófica” propuesta por Levi-Montalcini y Hamburger (1949) se ha afirmado convencionalmente que las NTs contribuyen al soporte trófico de diversas poblaciones de células nerviosas en el SN; en un sentido amplio, que actúan sobre aspectos del desarrollo y la supervivencia neuronal. En la actualidad las NTs se explican cómo moderadores de un extraordinario rango de funciones complejas imposibles de generalizar debido a que su fisiología se corresponde con la diversidad de mecanismos de síntesis y secreción, unión a receptores, vías de activación celular y la respuesta a diversos estímulos (Bothwell, 2014; Kaplan & Miller, 2000; Leßmann &

Brigadski, 2009; Lim et al., 2003).

Una forma de abordar la comprensión de la actividad funcional de este grupo de proteínas es a través de la descripción de las funciones desencadenadas por las vías activadas por sus receptores principales TrK y p75^{NTR}. De esta manera se establece que la unión a los receptores TrK desencadena señales (vía de las Quinasas) mediante las cuales se regulan en el SN la *supervivencia* y *diferenciación celular, migración y crecimiento neurítico* (Chao, 2003; E. J. Huang & Reichardt, 2003), procesos de *maduración de las sinapsis neuronales* y *plasticidad neuronal* (Park & Poo, 2013). Las vías de activación de P75^{NTR} por tanto, se relacionan con procesos de *supervivencia* (vía NF-kB), regulación de la *proliferación, inhibición del crecimiento neurítico* (por la regulación de la actividad de RHO) (Longo & Massa, 2013), *progresión y migración celular* (Hondermarck, 2012) y procesos de *muerte neuronal* mediados por la ausencia o reducción en la expresión de TrK con exposición de altos niveles de p75 NTR haciendo a la célula susceptible a la muerte celular apoptótica a través de la producción incrementada de Ceramidas y la activación de Quinasas (J M Conner & Tuszynski, 2009).

De otra parte la función de las proNTs no ha sido estudiada en detalle en humanos, pero diversos estudios en modelos animales sugieren que pueden relacionarse con mecanismos promotores de *plasticidad sináptica* y *morfología neuronal* (Hempstead, 2014) y en *procesos proapoptóticos* durante el desarrollo (Jansen et al., 2007) y la vida adulta como la pérdida neuronal por envejecimiento (Song, Volosin, Cragolini, Hempstead, & Friedman, 2010), muerte neuronal posterior a lesión (Tep et al., 2013), procesos de apoptosis en células de diversos órganos como la piel y el sistema cardiovascular y en la etiopatología del cáncer (Hondermarck, 2012).

El BDNF y su receptor TrkB es del grupo de las neurotrofinas descritas tal vez la más abundante en el SNC, indicando su papel esencial en las funciones fundamentales de *regulador de la transmisión sináptica*. Su producción y liberación ha demostrado ser dependiente en la modulación de la actividad neuronal (Thoenen, 1991, 1995) así mismo se ha demostrado que el BDNF tiene la capacidad de cambiar las propiedades sinápticas funcionales en el desarrollo y también en la promoción de la formación de nuevas

sinapsis en las neuronas maduras (Park & Poo, 2013). Además debido a sus efectos en el *crecimiento neurítico* y en la diferenciación de ciertos subtipos de neuronas el BDNF es un fuerte candidato que puede transformar cambios funcionales dentro de cambios estructurales durante el desarrollo o como consecuencia de cambios en la actividad neuronal. (McAllister et al., 1997; Tanaka et al., 2008; Korte, 2008).

Otra función reportada de las NTs es la modulación de la *función sensitiva*. Por ejemplo, se atribuye al NGF y NT-3 la formación de neuronas sensitivas durante el desarrollo y la participación en procesos de nocicepción del adulto (Lewin, Lechner, & Smith, 2014; Mendell, 1999) mientras que se ha relacionado la disminución en la expresión de la NT-4 y sus receptores con déficit en la regulación sensitiva por mecanorreceptores en neuronas sensitivas vagales que inervan el tracto gastrointestinal (Schwartz, 2000).

Como se menciona en capítulos anteriores debido a estas características funcionales, las NTs han sido ampliamente relacionadas con múltiples enfermedades neurodegenerativas, en el síndrome metabólico y en la fisiopatología de la obesidad (G. N. Chaldakov et al., 2001; Skledar et al., 2012).

3.1.5. Regulación neurotrófica del peso corporal, balance energético y obesidad.

La homeóstasis energética definida como el equilibrio entre la regulación de la ingesta calórica y el gasto energético es fundamental para la vida de un individuo, es regulada por mecanismos a corto plazo que controlan la ingesta de alimentos basada en los requerimientos nutricionales inmediatos y mecanismos a largo plazo que protegen la reserva energética y el peso corporal (Dietrich & Horvath, 2009). NTs como BDNF, NT-3 y NT-4 han sido implicadas en los mecanismos que influyen la ingesta de alimentos y el gasto calórico y se han relacionado con la etiología de la hiperfagia y el exceso de peso (Rios, 2014).

Diversos estudios en roedores han determinado que mutaciones en el gen BDNF desarrolla animales obesos, con marcados comportamientos hiperfágicos (Kernie, Liebl,

& Parada, 2000), preferencia al consumo de dieta rica en grasas e incremento en el número de comidas consumidas (Fox & Byerly, 2004). Así mismo, la disminución en la expresión de TrKB conlleva a comportamientos relacionados con excesiva alimentación (Xu et al., 2003) indicando el importante papel de esta neurotrofina en el control del apetito (Mason, Lobo, Parada, & Lutter, 2013). Estos animales con mutaciones genéticas del BDNF o de su receptor TrKB desarrollan aspectos característicos del síndrome metabólico que incluyen: la resistencia a la insulina y la leptina, dislipidemia e hiperglicemia (Kernie et al., 2000; Rios et al., 2001). En contraste, la aplicación exógena intraventricular de BDNF mitiga la ganancia de peso (Pellemounter et al., 1995) y mejora el metabolismo de la glucosa (Nakagawa et al., 2002).

En humanos los hallazgos complementan estos planteamientos, Investigadores reportaron una mutación del gen TrKB que afecta la activación de MAPK inducida por BDNF en un individuo con hiperfagia y obesidad severa (Yeo et al., 2004). Diversos estudios genéticos y poblacionales como el de Speliotes (2010) con 250.000 individuos obesos, relacionan polimorfismos y variantes genéticas del gen BDNF con la ocurrencia de obesidad, estableciendo la deficiencia de esta NT como una de las causas que explican la obesidad humana (Skledar et al., 2012; Speliotes et al., 2010; Sustar, Nikolac Perkovic, Nedic Erjavec, Svob Strac, & Pivac, 2016; Zegers et al., 2014).

Con respecto a los mecanismos celulares y moleculares propuestos en la explicación del papel del BDNF en la regulación energética y el peso corporal se proponen elementos de regulación central de la saciedad y el gasto calórico por medio de la expresión de BDNF en poblaciones neuronales hipotalámicas especialmente en núcleos responsables de la regulación del apetito como el núcleo ventromedial del hipotálamo (VMT) y el núcleo paraventricular (PVN) (Unger, Calderon, Bradley, Sena-Esteves, & Rios, 2007; Xu et al., 2003) a través de la regulación del consumo/gasto energético por vía hormonal de la *Leptina* (principal hormona adipostática), efecto mediado por la vía de las Quinasas (Komori, Morikawa, Nanjo, & Senba, 2006).

También se propone la influencia del BDNF sobre células diana en tejidos no nerviosos como hígado, músculo y páncreas sugiriendo un patrón de soporte neurotrófico en la inervación autonómica del tejido y la participación en procesos de homeóstasis de la

glucosa vía incremento de la sensibilidad a la insulina (Tonra et al., 1999; Tsuchida et al., 2002), regulación del gasto energético por la actividad locomotora y regulación del metabolismo/acumulación de lípidos en estos tejidos (García-Suárez et al., 2006; Rios, 2014).

Con respecto al rol de otras NTs como la NT-3 y NT-4 se establece que desempeñan un rol significativo pero no esencial en el control del peso corporal y la ingesta calórica. Los hallazgos experimentales son controversiales, con respecto a NT-3/TrkC se afirma que no juegan un papel esencial en el balance energético, pues su depleción central en modelos animales no reporta modificaciones en el peso corporal (Dierssen et al., 2006) mientras que alteraciones en el gen TrkC están asociadas significativamente con desórdenes de alimentación en humanos (Mercader et al., 2008).

Por otra parte, la aplicación exógena intraventricular de NT-4 tiene la capacidad de mitigar la hiperfagia y el exceso de peso en ratas con delección de la expresión génica del BDNF (Kernie et al., 2000) y en roedores con obesidad secundaria a hiperalimentación (Tsao et al., 2008). Se ha demostrado que induce anorexia independientemente de la función de la leptina (Tsao et al., 2008) y otros mecanismos reportados se relacionan con la regulación de los mecanorreceptores del tracto gastrointestinal y su influencia en la sensación de saciedad (Schwartz, 2000).

Recientemente se ha probado que las NTs tienen efectos metabotrópicos y que tienen parte en el metabolismo de lípidos y carbohidratos (Hristova, 2013). Además la evidencia demuestra que el BDNF está involucrado en múltiples enfermedades inflamatorias como: hipertensión, estado crónico inflamatorio, resistencia a la insulina, obesidad tipo 2, diabetes y síndrome metabólico (Cai, 2013; W. Liu et al., 2016). En este caso es plausible considerar que el déficit de NTs podría jugar un rol significativo en la patogenia y el desarrollo de manifestaciones en estados generalizados del síndrome metabólico.

3.1.6. NTs y ejercicio

Se ha documentado ampliamente mediante estudios clínicos y experimentales que el ejercicio físico tiene un impacto potencial sobre la salud cerebral, bajo el postulado que incrementa la disponibilidad cerebral de factores de crecimiento que modulan la función (Cotman, Berchtold, & Christie, 2007). Por otra parte, se reconoce ampliamente que los factores de crecimiento son modificadores clave de la estructura y la función de las redes neuronales como mecanismo secundario a la práctica de ejercicio (Ying et al., 2003)

El cuerpo de evidencia desde estudios animales (F. Gómez-Pinilla, Ying, Opazo, Roy, & Edgerton, 2001; Fernando Gómez-Pinilla, Ying, Roy, Molteni, & Edgerton, 2002), intervenciones en población humana (Dinoff et al., 2016; Hamer & Chida, 2009; Wagner et al., 2015) y estudios observacionales en poblaciones jóvenes y mayores (Colcombe et al., 2004; Gordon et al., 2008; Voss et al., 2010) reforzando la noción que hay una fuerte asociación entre el estilo de vida y la función neuronal (Douw, Nieboer, van Dijk, Stam, & Twisk, 2014) independiente de los niveles de adiposidad o del peso corporal (Kaur et al., 2016).

Evidencia sustancial indica que el incremento del ejercicio físico puede ser benéfico en el mantenimiento y en la mejoría de la función nerviosa posterior a una lesión o patología (Hedayatpour & Falla, 2015; Schulkin, 2016). De igual manera hay rica evidencia acerca que el ejercicio mejora tanto la cognición (Roig, Nordbrandt, Geertsen, & Nielsen, 2013) como el estado de ánimo (Josefsson, Lindwall, & Archer, 2014) con reportes que sugieren que la actividad de las NTs puede mediar estos efectos (T. Huang, Larsen, Ried- Larsen, Møller, & Andersen, 2014b).

El mecanismo de como el ejercicio impacta la función neuronal en los niveles celular y molecular es aún inexplorada (LLorens-Martin, Torres-Aleman, & Trejo, 2009; van Praag, Fleshner, Schwartz, & Mattson, 2014) Aunque se describen varias vías moleculares que posiblemente expliquen el impacto del ejercicio físico sobre la función neural que incluyen: (i) incremento de los niveles de neurotrofinas como BDNF, nerve growth factor, neurotrophin-3 (NT-3), neurotrophin-4 (NT-4), (ii) optimización de respuestas neuroendocrinas y fisiológicas a estresores físicos y psicosociales, (iii) promoción de un

estado anti-inflamatorio y (iv) mejoría de la estructura cerebral y la función cognitiva (Fragala et al., 2011; Gleeson et al., 2011; Li & He, 2009; Szuhany et al., 2015)

De forma inversa, los adultos con sobrepeso pueden presentar alteraciones en la función ejecutiva, la cual se normaliza luego de un programa de ejercicio de 6 meses (McFadden, Cornier, Melanson, Bechtell, & Tregellas, 2013). El importante papel de la función ejecutiva en la relación entre ejercicio físico y cognición fue confirmado por Voss y cols. (Voss et al., 2010) mostrando que la asociación entre ejercicio y conectividad neuronal está relacionada con la producción de factores de crecimiento como BDNF, Factor de Crecimiento Similar a la Insulina Tipo 1 (IGF-1) y Factor de Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF), los cuales son marcadores de neuroplasticidad. En humanos varias revisiones sistemáticas (Cassilhas, Tufik, & de Mello, 2016; Hötting & Röder, 2013) y estudios experimentales (Colcombe et al., 2004; Hamer & Chida, 2009; Seifert et al., 2010; Wagner et al., 2015) que comparan el efecto del ejercicio físico versus un grupo control con tratamiento convencional han reportado incremento en la función cognitiva posterior al ejercicio. Otros estudios no reportan cambios en la esfera cognitiva causados por el incremento de niveles plasmáticos de NTs en hombres y adolescentes con sobrepeso (Araya, Orellana, Godoy, Soto, & Fiedler, 2013a; Corripio et al., 2012)

Estudios previos en humanos han reportado mejoría de la estructura y la función neuronal en diversas patologías como la enfermedad de Alzheimer (Siegel & Chauhan, 2000; Yang et al., 2015; Yu et al., 2014) y Parkinson (da Silva et al., 2016; Nimwegen et al., 2011; Siegel & Chauhan, 2000) mediante la potenciación de neuroplasticidad por la expresión de factores de crecimiento mediados por el entrenamiento supervisado. De forma interesante, el ejercicio regular es una estrategia efectiva para combatir el déficit cognitivo y también mejora el fitness cardiovascular, la composición corporal y la salud metabólica del músculo esquelético (Cassilhas et al., 2016; Seifert et al., 2010). Sobre la base de estos hallazgos se plantea que el enfoque de la duración del ejercicio puede no ser requisito necesario para el mejoramiento de la salud; los argumentos para no incluirse en un programa de ejercicio regular son numerosos y complejos, citándose como una barrera importante en la implementación del ejercicio como un tratamiento efectivo en múltiples condiciones (Robinson Ramírez-Vélez et al., 2014)

Quizá el desarrollo de programas de corta duración con protocolos de alta intensidad pueda ser una estrategia efectiva en la mejoría de la condición física de la población. El entrenamiento de Alta Intensidad por Intervalos (HIIT por sus siglas en inglés) que consiste en pulsos cortos de ejercicio intenso separado por períodos de recuperación, ha demostrado la inducción de numerosas adaptaciones metabólicas y de salud que asemejan el entrenamiento de alto volumen de Resistencia Progresiva (RT) (M. Gibala, 2009). Esto parece aclarar la eficacia de la intensidad del ejercicio más que la duración en la mediación de adaptaciones fisiológicas al entrenamiento (M. J. Gibala, Little, & Macdonald, 2012)

Hay pocos ensayos clínicos controlados que comparen directamente los efectos del entrenamiento de RT, HIIT o la combinación de los dos (HIIT+PRT) como efectivo o más efectivo en el mejoramiento de la salud cardiovascular y cerebral en adultos. A pesar que las guías de salud pública recomiendan que los adultos acumulen al menos 150 minutos de actividad moderada o vigorosa por semana (Warburton & Bredin, 2016) el 53% de los colombianos no conocen este mínimo recomendado (Fonseca-Centeno et al., 2011)

Tres estudios recientes investigaron el efecto de modelos de HIIT sobre el SN por medio de la evaluación de la activación relacionada con BDNF: Saucedo-Marquez y cols., demostraron que un protocolo de ejercicio continuo al 70 % de la tasa máxima de trabajo y un protocolo de HIIT al 90% de la tasa máxima de trabajo por periodos de 1 minuto, alternando con un minuto de descanso (ambos protocolos por 20 minutos) incrementaron los niveles de BDNF comparado con una condición de reposo ($P = 0.04$; HIIT $P < 0.001$) en 8 hombres activos (28 ± 5 años) después de una sesión única de ejercicio (Saucedo Marquez, Vanaudenaerde, Troosters, & Wenderoth, 2015). Tonoli y cols., mostraron que una sesión combinada de HIIT (10 x [60 s 90% W_{max} , 60 s 50 W]) y el ejercicio continuo (22 min, 70% VO_2max) incrementaron los niveles séricos de BDNF e IGF-1 en 10 participantes con diabetes tipo 1 (Tonoli et al., 2015).

Recientemente Afzalpour y cols., compararon los efectos de 6 semanas de HIIT y regímenes de entrenamiento continuo sobre BDNF, *glial cell line-derived neurotrophic factor* (GDNF) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) en cerebros de ratas. Estos

autores mostraron que tanto el HIIT como el entrenamiento continuo incrementaron las concentraciones del BDNF y de GDNF significativamente, con mayor incremento en el grupo que practicó HIIT comparado con el entrenamiento continuo (Afzalpour, Chadorneshin, Foadoddini, & Eivari, 2015). Estos estudios preliminares son promisorios y sugieren que 15 a 30 minutos de ejercicio pueden ser suficientes para mantener o mejorar la salud neurológica y la condición aeróbica si el ejercicio es ejecutado en altas intensidades.

Las NTs tienen potencial biológico que sirve como blanco terapéutico para la prevención primaria y secundaria del riesgo cardiometabólico y en la neurodegeneración cerebral en estadios clínicos y subclínicos. Sin embargo si los protocolos de HIIT o RT son efectivos en el incremento de los niveles de factores neurotróficos y su potencial sobre la salud cerebral se desconoce aún.

3.2 Biosensores: Plasmón de Resonancia de Superficie

El método biosensor por Resonancia de Plasmón de Superficie (SPR) es una técnica nanobiosensora altamente sensible, que mide cuantitativamente los eventos de interacción de biomoléculas en tiempo real, sin requerir la marcación de las moléculas que interactúan (Liedberg, Nylander, & Lunström, 1983; Vachali, Li, Bartschi, & Bernstein, 2015). Esta tecnología es ampliamente usada en campos como la ingeniería farmacéutica, análisis de alimentos, caracterización de antígenos-anticuerpos y en ciencias básicas en especial en la cuantificación de interacciones proteína-proteína y proteína-moléculas pequeñas (Piliarik, Vaisocherová, & Homola, 2009); pero el análisis de interacción biomolecular no se limita solamente a las proteínas, por medio de esta metodología es posible medir también interacciones entre ADN- ADN, ADN-proteínas, lípidos-proteínas, sistemas híbridos de biomoléculas y superficies no biológicas (Marquart, 2017).

El principio de la SPR se basa en la medición óptica de los cambios en el *índice de refracción* que ocurren cuando las moléculas interactúan sobre una superficie de

detección que por lo general está conformada por una delgada lámina de metal (Marquart, 2017), permitiendo la medición de la interacción analito-ligando, facilitando la evaluación de enlaces, cinética molecular, afinidad, especificidad y concentración con alta sensibilidad. Este principio de detección es sensible a cambios en el índice de refracción dentro de aproximadamente 150 nm desde la superficie del sensor. (Pattnaik, 2005; Thillaivinayagalingam, Gommeaux, McLoughlin, Collins, & Newcombe, 2010)

El sistema óptico tiene un diseño que involucra un prisma de vidrio con altas cualidades ópticas que le son proporcionadas por un arreglo de fotodiodos. Cuando la luz es reflejada desde la superficie sensora, la transferencia de energía entre la luz y los electrones de la superficie de detección (compuesta por una lámina de oro) excitan la superficie y generan electrones oscilantes denominados plasmones (Vachali et al., 2015).

El campo eléctrico descrito se afecta por las moléculas que establecen uniones con la superficie sensora haciendo que el índice de refracción cambie, lo cual a su vez cambia el ángulo de la luz reflejada debido a los cambios de las ondas plasmónicas. Este cambio en el ángulo del SPR es detectado por un arreglo de fotodiodos y la señal es expresada en unidades arbitrarias como unidad de respuesta o unidad de resonancia (RU) (Biacore AB, 1994), la cual es directamente proporcional al total de masa de los ligandos y equivale frecuentemente a 1 picogramo por milímetro cuadrado (Vachali et al., 2015).

Un experimento típico en biosensor por SPR requiere los siguientes componentes (Biacore AB, 1994; Marquart, 2017):

- Superficie sensora: que actúa como chip sensor, funcionalizada con una superficie química adecuada para unir una biomolécula o un compuesto químico.
- Agente 1 (biomolécula): que se inmoviliza a través de uniones que establece con la superficie del chip sensor denominado *ligando*.
- Agente 2 (biomolécula): que fluye a través de la superficie del chip sensor denominado *analito*.
- Buffer: que fluye a través de la superficie del sensor que se conoce como *buffer de corrida o ejecución*.
- Transductor de la señal: encargado de registrar la señal de cambio de las RU en

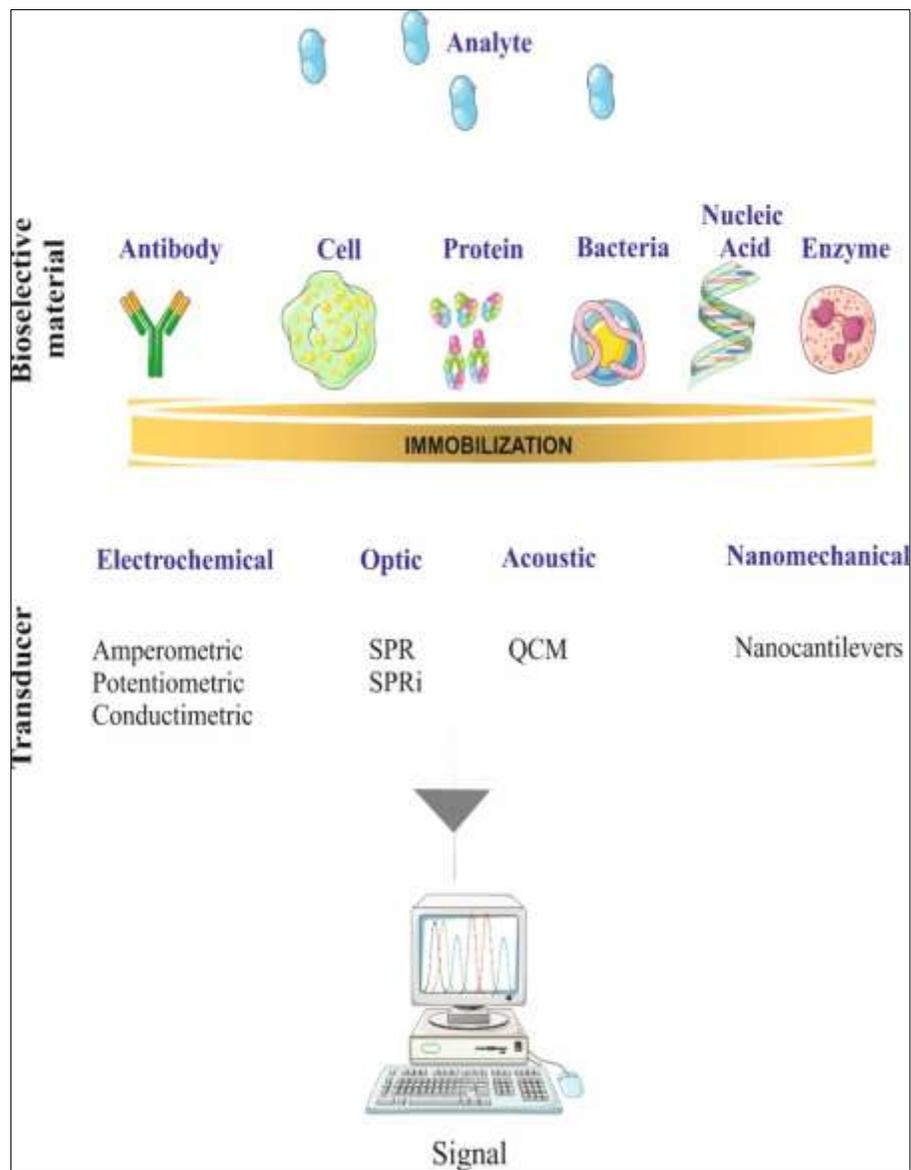
el tiempo y expresar estos cambios gráficamente mediante un software.

Los componentes de un experimento en SPR se esquematizan en la Figura 3-4.

Los métodos reportados para la inmovilización del ligando en la superficie sensora involucran metodologías directas e indirectas que promueven la derivatización covalente como el acoplamiento de *amina* o la modificación de *tiol* o *aldehído*. En el método directo de acoplamiento de amina se requiere la utilización de una molécula de ligando con una alta pureza (deseable que sea superior al 95%) la cual es inmovilizada sobre la superficie del chip previamente tratada con una solución de NHS / EDC (0,05 M N-hidroxisuccinimida / 0,2 M N-etil-N'-(dimetilaminopropil) carbodiimida) promoviendo la funcionalización a través de la activación de sus grupos carboxilo para formar ésteres de N-hidroxi-succinimida (Vachali et al., 2015).

Los grupos carboxilo activados, reaccionarán con el extremo N del grupo ϵ -amino de lisina formando enlaces covalentes con la proteína de interés y de esta manera detectando la presencia de la proteína diluida en el buffer de ejecución. Los ésteres de NHS que no reaccionan se desactivan mediante la acción de *etanolamina* 1 M (Marquart, 2008; Piliarik et al., 2009)

Como lo describe Vachali y cols: “en un análisis típico de SPR, un analito de interés pasa sobre la superficie del sensor ligada al ligando a un caudal de 10-100 μ l / min. Se preparan diferentes intervalos de concentración de analito en diluciones en serie que cubren el intervalo de unión de equilibrio de la interacción” (Vachali et al., 2015). De esta

Figura 3.4. Componentes de un experimento en SPR.

Fuente: (Bustos et al., 2017)

manera la muestra que contiene el analito en la solución de buffer es inyectada para promover todo el proceso descrito sobre la superficie de detección. La señal de cambio (índice de refracción) es cuantificada en RU y determinada en función del tiempo, de esta manera es transducida y expresada de forma gráfica por un *software* proporcionado por el dispositivo, mediante una gráfica denominada *sensograma*.

La tecnología de SPR presenta ventajas en la cuantificación de proteínas que se derivan de su alta sensibilidad, especificidad y determinación en tiempo real. Su aplicación en el campo de la investigación en NTs y sus receptores es relativamente reciente con escasos reportes en la literatura (Kennedy et al., 2016; X. Liu et al., 2014; Sheffield, Kennedy, Scott, & Ross, 2016; Sheffield, Vohra, Scott, & Ross, 2016) planteando un campo de aplicación promisorio.

4. Metodología

4.1 Tipo y diseño del estudio:

Ensayo clínico controlado, aleatorizado, simple ciego. Registrado en *ClinicalTrials.gov* (National Institutes of Health; USA) con el número de registro NCT02915913 del 22 de Septiembre de 2016 y aprobación por el *Comité de Ética de la Facultad de Medicina* de la Universidad Nacional de Colombia mediante acta No. 018-223-16 del 13 de Octubre de 2016.

4.2. Cálculo de la muestra:

Para calcular el tamaño de muestra necesario, se hizo uso de la fórmula para la comparación de dos medios:

$$n = [A + B] 2 \times 2 \times SD^2 / DIFF^2$$

Dónde: n = el tamaño de muestra requerido en cada grupo, SD = desviación estándar de la variable de resultado, y DIFF = tamaño de la diferencia deseada entre los grupos. A y B dependen del nivel de significancia y potencia deseadas, respectivamente.

Utilizando las estimaciones obtenidas a partir de la literatura del estudio realizado por *Araya y cols.*, en el 2013 (*Araya, Orellana, Godoy, Soto, & Fiedler, 2013b*) y el estudio realizado por *Mueller y cols.*, en el 2015 (*Mueller et al., 2015*) el tamaño de la muestra fue estimada a 12 sujetos en cada grupo (n=48); suponiendo una tasa de abandono del 15% se sobreestimó la población a 14 individuos por brazo del estudio y una muestra de 56 individuos (n=56). Lo anterior para llegar a una potencia del 80%, detectando una diferencia en las medias en el BDNF del 4% después del entrenamiento agudo, asumiendo una Desviación Estándar (DE) de 1,2 usando un test *t* de dos muestras con un nivel de significación de 0,05 a doble cara.

4.3. Fase Clínica

4.3.1. Vinculación y Selección de la Población

Previa aprobación del protocolo de investigación por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional (Acta No. 018-223-16) se hizo el reclutamiento voluntario de la población a través de convocatoria abierta.

La estrategia de reclutamiento incluyó el diseño de un logotipo del estudio, afiches, pancartas y volantes como material publicitario (Anexos A y B) y la estructuración de una encuesta digital mediante la herramienta web SurveyMonkey® (“SurveyMonkey,” 1999). Posteriormente se hizo divulgación del material a través de redes sociales y en las facultades de ciencias de la salud e ingeniería de cuatro universidades de la ciudad de Bogotá-Colombia, mediante autorización de las divisiones de bienestar universitario, comprendiendo el periodo de octubre a diciembre del año 2016.

La segunda fase de reclutamiento se desarrolló entre los meses de enero a marzo del año 2017 y se extendió a la divulgación en el programa de ciclovía de la ciudad de Bogotá mediante convenio temporal con el Instituto Distrital de Recreación y Deporte (IDRD).

Para la selección de la población se establecieron como criterios: género masculino, edad entre 18-30 años, clasificación como inactivo (no participación en ejercicio supervisado más de una vez por semana durante los últimos 6 meses, de acuerdo con el “International Physical Activity Questionnaire” (IPAQ) calificación < 600 MET min/sem) (Sjostram et al., 2009), obesidad abdominal con circunferencia de cintura \geq a 90 cm o exceso de peso por Índice de Masa Corporal (IMC) \geq 25 hasta \leq 35 kg/m² (OMS). Los voluntarios que cumplieron con los criterios de inclusión y que manifestaron interés en participar en el estudio fueron inscritos mediante un formato, contactados telefónicamente y citados a una sesión de entrevista personal y valoración física.

Tanto la entrevista, como los procedimientos de valoración e intervención se desarrollaron en las instalaciones del Centro de Estudios para la Medición de la Actividad

Física (CEMA) de la Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud de la Universidad del Rosario en la ciudad de Bogotá- Colombia.

En la entrevista se explicaron los objetivos, metodología, procedimientos, beneficios, riesgos y complicaciones del estudio y mediante anamnesis se indagaron: antecedentes, hábitos de actividad física/alimentación, indicación/contraindicación para la ejecución de ejercicio y verificación de los criterios de inclusión y exclusión. Se instó a los individuos a la lectura completa del consentimiento informado (Anexo C), brindando el espacio para hacer preguntas y aclarar dudas solicitando posteriormente la autorización expresa mediante la firma del documento.

El riesgo fue minimizado mediante la exclusión de individuos con contraindicaciones para la evaluación y el entrenamiento físico, verificándose por la historia de salud y un examen físico sencillo consistente en la toma de signos vitales, talla, peso y cálculo del IMC. Los criterios de inclusión y exclusión se presentan en la Tabla No 5-1.

Tabla 4-1. Criterios de Inclusión/Exclusión

Criterios de Inclusión	Criterios de Exclusión
<p><u>Obesidad central:</u></p> <p><i>Circunferencia de cintura $\geq 90\text{cm}$ o exceso de peso: índice de masa corporal $\text{IMC} \geq 25$ a $\leq 35 \text{ kg/m}^2$</i></p>	<p><u>Pérdida o ganancia de peso</u> (>10% del peso corporal) en los últimos 6 meses sin explicación alguna.</p> <p><u>Hipertensión no controlada:</u> presión sistólica 160 mmHg o diastólica 95 mmHg con o sin tratamiento.</p> <p><u>Ingesta frecuente de medicación</u> para suprimir o estimular el apetito</p>
<p><u>Inactividad Física</u></p> <p><i>No participación en ejercicio supervisado más de una vez por semana durante los últimos 6 meses, de acuerdo con el "International Physical Activity Questionnaire" (IPAQ)</i></p>	<p><u>Actividad Física</u> (> 150 min actividad física programada por semana).</p>

Firma del consentimiento informado

Interés en participar en el estudio y mejorar la condición física

Infecciones sistémicas

Enfermedades gastrointestinales, incluyendo hepatitis crónica o cirrosis, episodios de hepatitis o pancreatitis durante el último año, enfermedad inflamatoria intestinal que haya requerido tratamiento durante el último año. Cirugía abdominal reciente (apendicectomía, colecistectomía, entre otras)

Diabetes (Tipo I o II), intolerancia al consumo oral de glucosa (118 mg/dL), o uso de medicamentos hipoglicemiantes

Enfermedades neurodegenerativas

Desórdenes psiquiátricos

Asma

Uso de medicamentos antidepresivos, esteroides o suplementos hormonales con dosis cambiantes en los últimos 6 meses.

Indicación de no ejecución del protocolo de ejercicio (Physical Activity Readiness Questionnaire, PARQ).

Cualquier otra condición en la cual, en la opinión de los investigadores pudiera afectar de forma adversa el desarrollo del ensayo

Fuente: Autora

4.3.2. Medición de la línea de base

Los individuos que cumplieron la totalidad de los criterios de inclusión fueron evaluados para determinar la condición física mediante pruebas de esfuerzo cardiovascular, de resistencia y desempeño muscular, cuya finalidad fue la dosificación individualizada del

programa de ejercicio. Para la ejecución de las pruebas se solicitó a los participantes presentarse en las instalaciones del CEMA a una sesión única de valoración de 90 minutos de duración (lunes a domingo en horas de la mañana), en ropa y calzado deportivo, con disponibilidad de tiempo y consumo de alimentos con un mínimo de 1 hora antes de la citación.

La *prueba de esfuerzo* se realizó sobre banda caminadora según el protocolo de Bruce modificado (Bruce, 1971; Bruce, Blackmon, Jones, & Strait, 1963) con aumento progresivo de la velocidad y la inclinación hasta alcanzar el máximo esfuerzo percibido por el individuo, controlando la respuesta cardíaca con monitor cardíaco (Cardiac Frequency Sensor H7; Polar® USA) supervisando la tolerancia al esfuerzo mediante la aplicación de la escala modificada de Borg (Borg, 1990).

La *fuerza prensil* fue evaluada usando un dinamómetro manual ajustable de marca Takey® (Digital Grip Strength Dynamometer Model T.K.K.540; Takei Scientific Instruments Co., Ltd, Niigata, Japan). Mediante una demostración previa, los individuos fueron instruidos para realizar la prueba en posición bípeda con los miembros superiores en aducción, rotación neutra, paralelos sin contacto con el cuerpo, ejecutando una presión manual máxima durante 3- 5 segundos en dos intentos alternados por cada miembro. (Pacheco-Herrera, Ramírez-Vélez, & Correa-Bautista, 2016; Ramirez-Velez et al., 2017)

La evaluación de *potencia muscular* de miembros inferiores se realizó mediante el *salto de longitud vertical y horizontal* a pies juntos, determinando la máxima distancia alcanzada durante dos intentos consecutivos. Se registró la distancia recorrida desde el despegue de los dos pies con cinta métrica para el salto horizontal (Cinta métrica 30-797 Stanley® Black and Decker, USA) y cinturón para el vertical (T.K.K.5406 JUMP MD® Takei Scientific Instruments Co., Ltd, Niigata, Japan) (Elizondo & Rojas, 2001). Todas las pruebas de fuerza prensil y salto se realizaron por duplicado y se registró el promedio de las dos evaluaciones.

La *fuerza dinámica* se evaluó mediante la prueba de Resistencia Máxima (RM) verificando la cantidad máxima de peso que el individuo consiguió movilizar en un ciclo completo de movimiento durante la ejecución de 10 repeticiones de ejercicios alternados (10RM) de los principales grupos musculares de miembros superiores e inferiores (Brown

& Weir, 2001). Los ejercicios se ejecutaron con carga a tolerancia con kit standard de discos, barras y mancuernas encauchetadas (SportFitness®; Medellín, Colombia)

Las *variables antropométricas* fueron medidas entre las 6:00 am y las 8:00 am previa verificación de ayuno, evacuación intestinal y micción matutinas. El *peso y la composición corporal* (IMC, % grasa, % hidratación, masa magra) fueron medidos mediante procedimientos estandarizados de análisis por impedancia bioeléctrica de 8 puntos con analizador médico de composición corporal (SECA® mBCA 515; Hamburgo, Alemania) y la talla con plataforma mecánica en estadiómetro inalámbrico (SECA® 274; Hamburgo, Alemania).

La *circunferencia de cintura* (CC) se determinó como medida de la concentración de la grasa abdominal y predictor del riesgo cardiovascular, tomada en el punto medio entre el borde costal inferior (10° costilla) y la cresta ilíaca al final de una espiración normal y registrada con cinta métrica antropométrica (Ohaus® 8004-MA, Parsippany, NJ, EEUU) (Moreno González, 2010)

La *presión arterial y la frecuencia cardíaca* fueron obtenidas utilizando un dispositivo oscilo-métrico electrónico (Modelo Riester Ri-Champion, Jungingen, Alemania) con el individuo en reposo, en posición sedente, espalda apoyada y los pies soportados en el piso. Las mediciones se realizaron por duplicado con un intervalo de 10 minutos entre cada una.

4.3.3. Métodos de Cegamiento y Aleatorización

Posterior a completar las mediciones de línea de base los participantes elegibles fueron asignados de forma aleatoria a los grupos de intervención y control. La aleatorización se realizó mediante cuatro bloques por generación automática con el software Randomization® y fue conducida de forma independiente usando sobres opacos y detallando los procedimientos en el manual de operaciones del estudio.

La coordinación de la secuencia de asignación y aleatorización fue realizada por personal del CEMA de la Universidad Del Rosario. Todos los participantes y el personal del estudio (incluyendo investigadores y estadístico) fueron cegados a la asignación del

tratamiento a lo largo del todo el protocolo del ensayo; el acceso al código de asignación fue restringido a un profesional de apoyo quien no participó del proceso de análisis final de los resultados. La importancia de mantener el cegamiento fue reforzada mediante reuniones frecuentes con la totalidad del equipo investigador y el personal de apoyo.

4.3.4. Intervención

Todos los participantes que culminaron con éxito el protocolo de evaluación de la línea de base fueron citados a una sesión de intervención en las instalaciones del CEMA en el horario de 6:00 a 8:00 am. Se les solicitó presentarse en ropa y calzado deportivo, no ingerir bebidas alcohólicas, ni consumir sustancias psicoactivas o tabaco (mínimo 24 horas), sueño adecuado (mínimo 8 horas) y presentarse en ayuno nocturno (mínimo 8 horas) para la toma de muestras sanguíneas. Las condiciones fueron verificadas por el personal de apoyo mediante lista de chequeo.

Cada uno de los voluntarios fue asignado a los grupos control o intervención siguiendo los procedimientos de aleatorización descritos. La intervención siguió el protocolo publicado por Ramirez-Velez y colaboradores (Robinson Ramírez-Vélez et al., 2016b) con adaptaciones para ejercicio agudo y fue direccionado por personal especializado del CEMA bajo supervisión de la investigadora principal manteniendo el protocolo de cegamiento. Los grupos fueron distribuidos de la siguiente manera: Control no ejercitador, (GC); Ejercicio de Alta Intensidad por Intervalos (HIIT); Entrenamiento de Resistencia Progresiva (RT) y Protocolo de Ejercicio Combinado (HIIT + RT).

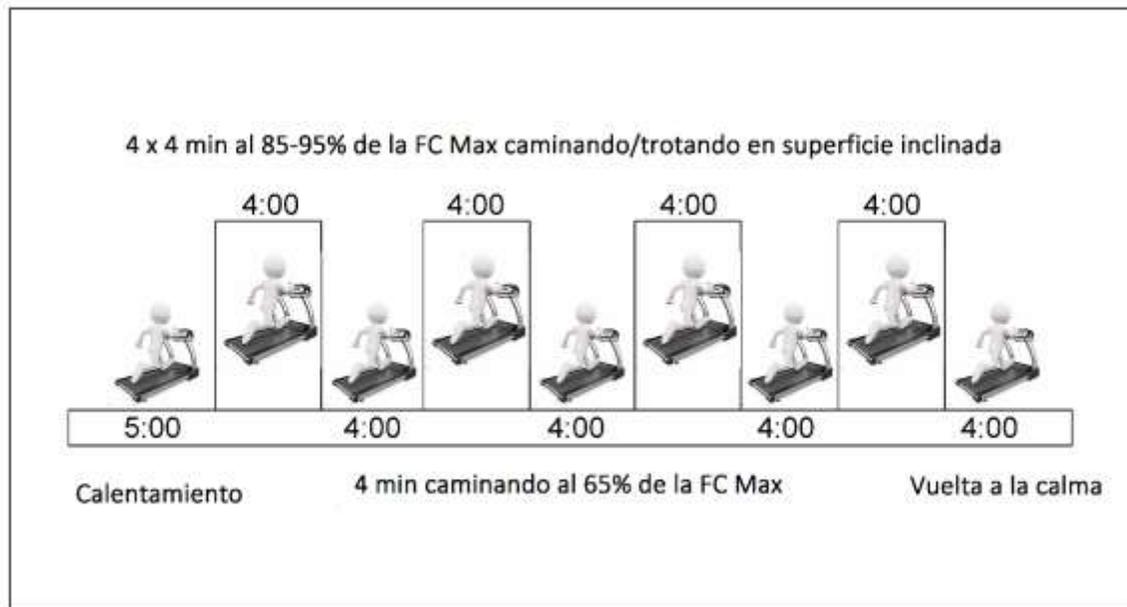
- Grupo Control No Ejercitador (GC): Los participantes del grupo control no realizaron ningún régimen específico de entrenamiento en ejercicio y se verificó la no ejecución de ejercicio físico previo a la intervención mediante el cuestionario de IPAQ (Sjostram et al., 2009). Posterior a la toma de la primera muestra sanguínea asistieron a una consejería con un miembro del equipo investigador sobre los beneficios de la práctica de ejercicio físico, la actividad tuvo una duración de 90 minutos y posterior a su finalización se procedió con la segunda toma de sangre y la ingesta de alimentos.

- Grupo de Ejercicio de Alta Intensidad por Intervalos (HIIT): Los individuos participantes de este grupo realizaron ejercicio de caminata rápida o trote a velocidad en caminadora estática con superficie inclinada hasta alcanzar la intensidad objetivo. Se calculó el gasto energético del entrenamiento para los rangos de edad de los participantes cumpliendo las recomendaciones del consenso de salud pública de la Organización Mundial de la Salud (“WHO | Diet and physical activity,” 2017) y el Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (US Department of Health and Human Services., 2017)

La meta de entrenamiento del grupo HIIT fue la ejecución de una sesión de ejercicio en intervalos de 4X4 minutos al 85-95% de la FCMax (con la zona objetivo mantenida por al menos 2 minutos) iniciando con un calentamiento de 5 minutos y finalizando con periodo de recuperación de 4 minutos al 65% de la FCMax, con un tiempo promedio de ejercicio de 35-45 minutos, estimando como objetivo el gasto calórico de 500 Kcal el cual fue restringido a la tolerancia del esfuerzo percibido por el individuo. Para la determinación del gasto calórico se hizo uso de formulas matemáticas (Frankenfield, Roth-Yousey, & Compher, 2005) que fueron contrastadas con una muestra aleatoria del 10% del grupo al que se le realizó calorimetría indirecta por espirometría usando el equipo K5® (COSMED; USA) y estableciendo la equivalencia de la estimación (Vandarakis, Salacinski, & Broeder, 2013).

Durante la intervención supervisada, se registró la frecuencia cardiaca (FC) usando un monitor de FC (Polar Pacer, USA) para asegurar el cumplimiento del estímulo de ejercicio en la zona predeterminada. Para controlar la tolerancia al ejercicio durante la sesión se aplicó la escala de esfuerzo de Borg. Se esquematiza el protocolo de intervención en la Figura 4-1.

Figura 4-1. Protocolo de ejercicio HIIT



Fuente: (Robinson Ramírez-Vélez et al., 2016b)

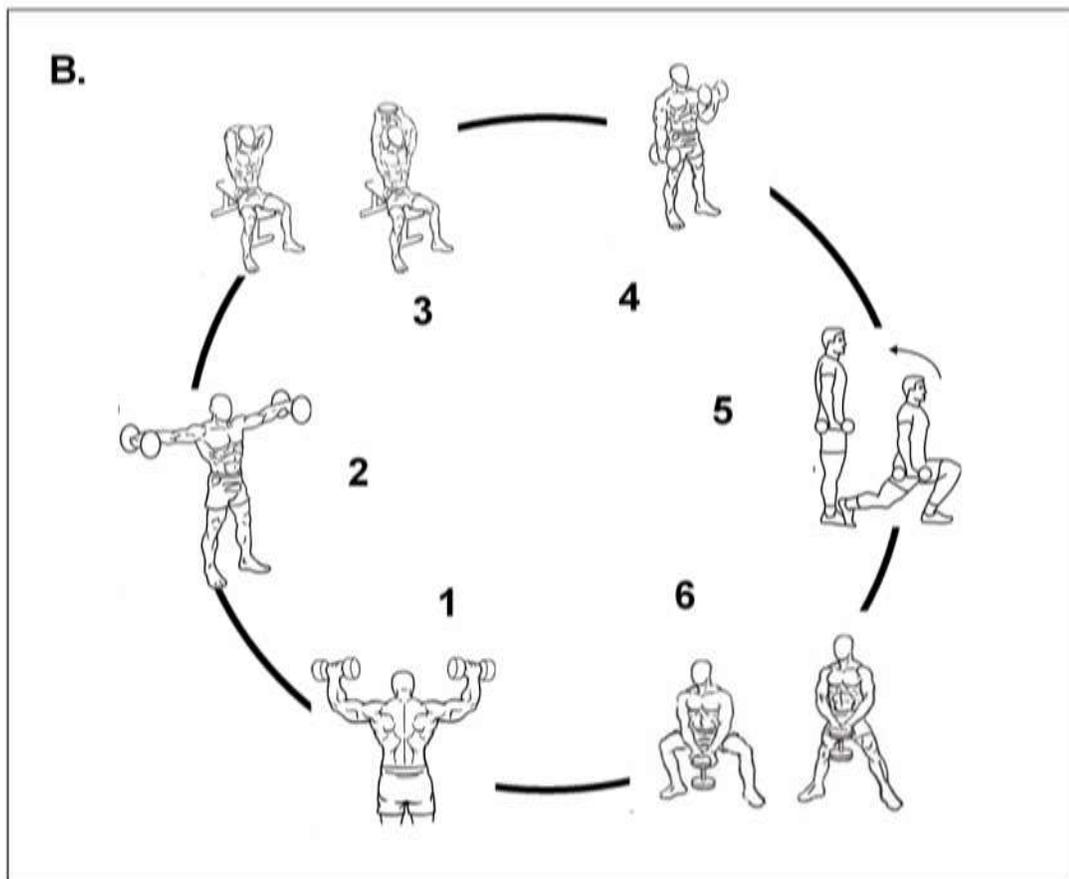
- Grupo de Entrenamiento en Resistencia Progresiva (RT): La sesión de entrenamiento de este grupo estuvo compuesta por una serie de 25 repeticiones de 8 ejercicios para grupos musculares de miembros superiores e inferiores, 60 segundos de recuperación al 30% de la FC Max promoviendo un gasto calórico de 500 kcal.

El protocolo de entrenamiento se ejecutó al 40-80% de una RM, 4 X 20-30 repeticiones. Fueron planificados 5 ejercicios para miembros superiores que incluyeron: *curl de bíceps* (flexión de codo), *curl de tríceps* (extensión de codo) *dumbbell side lateral raise* (vuelos laterales: abducción bilateral de hombro), *dumbbell side frontal raise* (vuelos frontales: flexo-extensión de hombro) *press militar* (flexo-extensión de hombro/codo) y tres ejercicios de miembros inferiores: *dumbbell squat* (sentadilla: flexo-extensión de miembros inferiores), *dumbbell*

front lunge (tijera anterior: flexo-extensión de miembros inferiores), y *dumbbell side lunge* (tijera lateral: flexo-extensión de miembros inferiores).

La FC y la percepción de esfuerzo mediante la escala de Borg fueron monitorizados durante toda la sesión de ejercicio. Antes y después de la ejecución de los ejercicios los individuos ejecutaron calentamiento y recuperación de 10 minutos de duración cada uno consistente en caminata y ejercicios de estiramiento para miembros superiores e inferiores. La dosificación del ejercicio fue individualizada y se basó en los resultados de la pruebas físicas aplicadas en la medición de la línea de base. Figura 4-2.

Figura 4-2. Protocolo de Entrenamiento en Resistencia.



Fuente: (Robinson Ramírez-Vélez et al., 2016b)

- Grupo de Entrenamiento en Ejercicio Combinado (EAll+ERP): Este grupo recibió como intervención la combinación de los dos protocolos descritos anteriormente. Por lo tanto, el gasto energético asociado con el entrenamiento físico prescrito se estimó entre 300-500 kcal/sesión. La ejecución del entrenamiento fue 100% supervisado por personal del estudio para verificar el cumplimiento de la FC objetivo y el gasto energético, este último estimado mediante calorimetría indirecta usando el sistema de medición metabólica proporcionado por el equipo portable Cosmed K5 b² (Cosmed®; Roma, Italia). Para minimizar la fatiga y ocurrencia de lesiones se ejecutó incremento gradual de la carga y se verificó la tolerancia al esfuerzo de los participantes.

4.3.5. Toma de muestras:

Se tomaron muestras sanguíneas de todos los participantes mediante técnica de venopunción antes y 30 minutos después de la ejecución de la intervención. Las muestras fueron tomadas previa asepsia y antisepsia y verificación de ayuno por un flebotomista experto entre las 7:00 a:m y las 10:00 am, con el objetivo de minimizar los posibles efectos del ritmo circadiano y la ingesta calórica sobre las concentraciones plasmáticas de NTs (Lommatzsch et al., 2005)

Para la obtención de muestras de plasma sanguíneo se consideró el protocolo europeo del Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES) (“CIBERES :Centro de investigación en red de enfermedades respiratorias,”). La sangre fue recogida en tubos plásticos estériles con tapa de seguridad, recubiertos con ácido etilendiaminotetraacético pulverizado (K2 EDTA) con volumen de 2.0 mL, de 13 x 75 mm, para extracción por sistema de vacío (Vacutainer BD ®; Beckton Dickinson & Company. USA). Fue extraído un volumen de 4.0 mL para cada toma con un total de 8 mL por cada individuo.

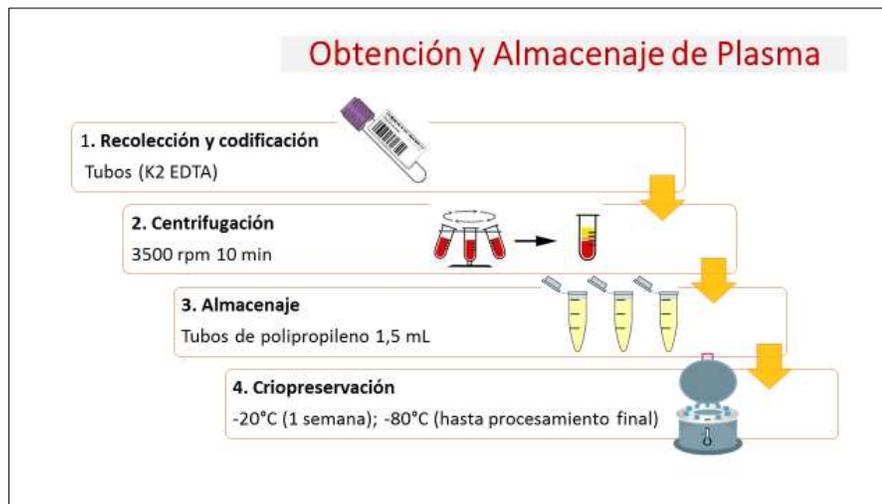
Como estrategia de control riguroso de las muestras y preservación del cegamiento los tubos se marcaron con rótulos de identificación numérica asignando una codificación compuesta por letras y números. El primer número se asignó en un consecutivo según el orden de llegada del individuo, seguido de la letra P (plasma) y el número 1 para las muestras pre intervención y 2 para las post intervención. Las muestras rotuladas fueron recogidas diariamente y trasladadas en un contenedor cerrado al laboratorio de Farmacología del campus biomédico de la Universidad de La Sabana.

4.4. Fase Analítica:

4.4.1 Separación y Conservación de Plasma

Las muestras fueron centrifugadas para retirar la porción celular del componente plasmático a 3500 rpm durante 10 minutos; el sobrenadante plasmático fue recolectado, alicuotado con micropipeta (Research ® Plus; Eppendorf Company USA) y puntas esteriles (e.p T.I.P.S ®; Eppendorf Company USA). en tubos de polipropileno de 1,5 mL (Eppendorf Safe-Lock ®; Eppendorf Company. USA) marcados nuevamente con rotulo de identificación y distribuidos en 4 alícuotas numeradas consecutivamente entre paréntesis.

El protocolo de preservación incluyó la refrigeración a -20 °C por una semana y posterior congelación a -80°C hasta el análisis de las concentraciones plasmáticas (Trajkovska et al., 2007). La descongelación incluyó el paso de las muestras de -80°C a -20°C por tres días y descongelación a temperatura ambiente previo análisis. El protocolo de recolección y manejo del plasma se presenta en la Figura 4-3.

Figura 4-3 Protocolo de Obtención y Almacenaje de Plasma

Fuente: Autora

4.4.2. Metodología de cuantificación de NTs por biosensor de Plasmón de Resonancia Superficial (SPR)

Para el análisis cuantitativo de NTs en plasma se utilizó la metodología SPR mediante el uso del equipo biosensor óptico (Biacore 2000®; General Electric Healthcare Uppsala-Sweden) (Schasfoort & Tudos, 2008). Equipado con un chip sensor CM5 (Biacore® Sensor Chip CM5 BR100399; General Electric Healthcare Uppsala-Sweden), compuesto por una matriz de carboxil-metil-dextrano sobre una película de oro y cuatro celdas de flujo. Para la inmovilización del ligando se escogió la metodología directa por medio del *acoplamiento de amina* con el uso de anticuerpos de alta pureza para cada proteína evaluada.

La cuantificación se desarrolló a través de los siguientes pasos: *i) ensayo de preconcentración; ii) inmovilización de anticuerpos anti-NTs; iii) curvas de calibración y iv) cuantificación de NTs.*

- **Ensayo de preconcentración:**

Se realizó con el fin de determinar la cantidad de ligando (*anticuerpos anti-BDNF, anti-NT-3 y anti-NT4*) a ser inmovilizado en la superficie sensora del chip CM5 (ver Tabla 5.3) . Para el ensayo de preconcentración se prepararon diluciones mediante el cálculo de concentraciones conocidas de la proteína en el rango entre 5 a 50 µg/mL. Se escogieron tres concentraciones: 5 µg/mL, 10 µg/mL y 50 µg/mL, las cuales fueron determinadas teniendo en cuenta el peso molecular de las NTs que en su forma madura es de 13 KDa, así como la densidad de la superficie del sensor. Lo anterior con el objetivo de favorecer una adecuada relación entre masa por unidad de superficie optimizando la sensibilidad de la señal (Biosensing Instrument, 2007).

Para la dilución del anticuerpo se utilizó como buffer: *acetato* pH 4.1, 4.5 y 5.5 tomando en cuenta el punto isoeléctrico (*pi*) basal del BDNF (*pi*=9.01), NT-3 (*pi*= 9.46) y NT-4 (*pi*= 9.01) (Cell Signaling Technology, 2003). Estos valores de pH inferiores al *pi* de cada proteína favorecieron su ionización parcial. Entre cada una de las inyecciones de los anticuerpos se inyectó *Etanolamina Clorhidrato* para eliminar las posibles interacciones existentes entre los anticuerpos y la superficie del sensor en cada una de las inyecciones. La tabla 4.2 describe las características de los anticuerpos y proteínas.

Tabla 4-2 Anticuerpos y proteínas

Nombre del reactivo	Referencia	Especie	Metodología
Mouse monoclonal [2E8] to Neurotrophin 4	Ab87394-Abcam	Ratón	<i>Pre-concentración Inmovilización</i>
Rabbit polyclonal to Neurotrophin 3	Ab65804-Abcam	Conejo	
Human monoclonal to Brain Derived Neurotrophic Factor	MAB248-100-R&D Products	Humano	

Recombinant BDNF Organism species: Homo sapiens	248-BD-005 R&D products	Humano Ratón/Rata Canino Equino	<i>Ensayos de Unión</i>
Recombinant Neurotrophin 3 (NT-3) Organism species: Homo sapiens.	Cloud-Clone Corp, RPA106Hu01;10 µg	Humano	
Recombinant Neurotrophin 4 (NT-4) Organism species: Homo sapiens	Cloud-Clone Corp RPA107Hu01; 10 µg	Humano	

Fuente: Autora

- **Ensayo de Inmovilización:**

El ensayo de inmovilización se realizó previa preparación de la superficie de carboxil-metil-dextrano por medio de su activación con EDC-NHS en una proporción 1:1; esta activación permitió la funcionalización de la superficie, necesaria para la inmovilización de los anticuerpos a concentración de 50 µg/mL y 10 µg/mL y pH 4.5 según las características óptimas escogidas en el ensayo de preconcentración. La inmovilización del BDNF se realizó en la celda de flujo 1 (FC1), la NT-3 en la celda 3 (FC3) y la NT-4 en la celda 4 (FC4). Posterior a la inmovilización, se realizó el bloqueo de los sitios activos de la matriz que no establecieron unión con anticuerpos con *Etanolamina Clorhidrato* a pH 9.5. El proceso se hizo de forma individual para cada anticuerpo (anti-BDNF, anti-NT-3, anti-NT4).

Se escogió como buffer de ejecución HBS-EB ([10 mM 4-(2 hydroxietyl) piperazina-1-ácido etanosulfónico (HEPES), 150 mM NaCl, 3 M ácido etil diamino tetracético (EDTA), 0.005% Tween 20) a pH 7.4. Los reactivos utilizados se presentan en la Tabla 4-3.

El flujo de inyección también fue evaluado entre valores de 50-100 µL/min hasta encontrar el óptimo, determinándose flujo de 60 µL/min; se escogieron como agentes de regeneración de la matriz *Glicina pH 2.4* para BDNF y NT-4, y Solución de *Sodium-dodecil-sulfato (SDS) 0,005%* para NT-3. Las características de los agentes de regeneración se presentan en la Tabla 4-4.

Tabla 4-3. Identificación de reactivos

Nombre del reactivo	Referencia	Metodología
<i>Etanolamina Clohidrato (HCl) 1 M pH 9.5</i>	<i>Xantec</i>	<i>Regeneración (Bloqueo de sitios activos)</i>
<i>NHS (N hidroxisuccinimida)0.1 M – EDC (dimetilaminopropil carbodiimida) , 0.4M (1:1)</i>	<i>Xantec</i>	<i>Reactivos de activación de la matriz del chip CM5</i>
<i>HBS-EB; 10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3.4 mM EDTA, 0.005% P20</i>	<i>Preparado en el laboratorio</i>	<i>Buffer corrida del equipo</i>

Tabla 4-4 Agentes de regeneración de la matriz

Proteína	Agente
BDNF	Glicina pH 2.4
NT-3	SDS 0.005%
NT-4	Glicina pH 2.4

Fuente: Autora

Para todos los pasos del ensayo se siguieron las condiciones reportadas en estudios previos y según parámetros internacionales para la metodología de SPR (Biacore AB, 1994; Bustos, Suesca, Millán, González, & Fontanilla, 2014; González Carreño, Fontanilla Duque, & Bustos Cruz, 2011; Sanchez Molina, 2016b).

- **Curvas de calibración:**

Para conocer las concentraciones de NTs en muestras plasmáticas, se realizaron curvas de calibración para cada una de las proteínas. Para esta curva se hicieron experimentos con concentraciones conocidas de cada proteína por medio de inyecciones de diluciones seriadas en el rango de 100 a 2500 ng/mL. Para establecer las concentraciones conocidas se usaron *proteínas recombinantes* (Tabla 4-3)

Estas curvas de calibración fueron analizadas de acuerdo a las guías de la International Conference of Armonization (ICH) para metodologías analíticas (ICH Harmonised Tripartite, 2005). Finalmente se hizo un análisis de regresión lineal para determinar la ecuación de la recta que permitiera cuantificar los analitos en las muestras plasmáticas.

- **Cuantificación de proteínas:**

Para afinar el procedimiento de cuantificación se realizó un preensayo con muestras de plasma humano de voluntarios sanos quienes no hicieron parte del estudio. Los voluntarios fueron 4 hombres potencialmente sanos, con IMC normal y edades entre los 18-30 años que completaron los protocolos de ejercicio (n=3) o sirvieron como control (n=1). Las muestras fueron usadas para determinar la eficacia de la interacción de la proteína con el anticuerpo y para la verificación de las condiciones ideales en la medición de las NTs, reforzando de esta manera la pertinencia de los criterios definidos.

Para la cuantificación de las muestras de los individuos participantes del estudio, el plasma fue descongelado de forma progresiva para asegurar las condiciones adecuadas de estabilidad de las proteínas; de esta manera las muestras fueron trasladadas de -80°C a -20° por tres días y posteriormente descongeladas a temperatura ambiente (20°C) previo al análisis. El plasma fue diluido en una proporción de 1/100 (10 μL de plasma en 990 μL de HEPES) para obtener un volumen de 1mL que fue contenido en tubos (Eppendorf Safe-Lock®; Eppendorf Company. USA); para este procedimiento se usaron puntas estériles (e.p T.I.P.S®; Eppendorf Company USA) y micropipetas previamente calibradas (Research® Plus; Eppendorf Company USA). Las diluciones obtenidas fueron centrifugadas (Centrifuge® 5418; Eppendorf Company USA) a 13000 rpm por 1 minuto, para eliminar burbujas que pudieran afectar la señal en el biosensor.

Se realizaron inyecciones individuales para cada una de las muestras (pre y post intervención) por triplicado y se establecieron los valores de RU mediante la interpretación de los sensogramas aportados por el dispositivo mediante el software Biacore® 2000 (General Electric Healthcare Uppsala- Sweden).

Los valores obtenidos en RU de cada una de las inyecciones de las muestras plasmáticas fueron interpolados en la curva de calibración específica obtenida previamente para cada proteína.

4.5 Software y Análisis Estadístico

Para la elaboración de las curvas de calibración del equipo BIACORE, se usó el programa OriginLab 8 (OriginLab Corporation) mediante el cual se analizaron los datos de cada uno de los sensogramas.

Para el análisis estadístico se utilizó el software de análisis de datos R-Studio® (Boston; USA 2016) llevando a cabo el siguiente procedimiento de análisis de los resultados: *i*) se realizó estadística descriptiva para determinar características de la población, *ii*) se seleccionó un *t-test* o *t de student* para evaluar la existencia de diferencias significativas

(p -value < 0.05) entre los valores basales de NTs y los valores postintervención por cada grupo de tratamiento y el grupo control; *ii*) se determinaron diferencias entre grupos por medio de análisis *ANOVA*, buscando la existencia de diferencias significativas entre grupos por tratamiento y comparados con el grupo control y *iv*) se determinó el tamaño del efecto por medio del cálculo del *D-Cohen*.

4.6 Consideraciones Éticas

El presente estudio se acogió a la declaración de Helsinki y tuvo en cuenta la reglamentación nacional vigente para la investigación en seres humanos (Ley 8430 de 1993). Se declara que en esta investigación no se presentaron conflictos de interés de ninguna índole de parte de los investigadores o participantes del estudio. En esta investigación prevaleció el criterio del respeto a la dignidad, la protección de los derechos y el bienestar de los sujetos participantes basando los planteamientos en estudios experimentales en modelos animales y en estudios en población humana previamente reportados.

La participación en el estudio fue libre y voluntaria y no se realizó ningún tipo de remuneración o forma de retribución, así mismo los sujetos no se encontraron en condición de subordinación. Se explicó a todos los participantes clara y concisamente los posibles riesgos derivados del estudio a través de la lectura y explicación del consentimiento informado (Anexo) que fue redactado en forma comprensible y firmado como requisito para la participación. Teniendo en cuenta que se desarrollaron procedimientos de extracción sanguínea con un volumen total de 8 mL, la presente investigación se estructuró como una investigación con riesgo mínimo.

Los individuos fueron convocados, seleccionados, evaluados e intervenidos solo hasta la obtención del aval del comité de ética de la Universidad Nacional de Colombia. Se aseguró la transparencia y rigurosidad en todos los pasos del ensayo clínico siguiendo los lineamientos del CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) manteniendo la reserva de la identidad de los participantes. La investigadora principal

se aseguró de facilitar todas las condiciones mínimas requeridas para los individuos participantes que incluyeron el soporte de personal médico e infraestructura de emergencias. En el presente estudio no se reportaron eventos adversos o derivados de la intervención que generarán compromiso total o parcial de la condición de salud de los participantes.

El estudio estableció un protocolo de manejo, almacenaje y desecho de las muestras biológicas, conforme los protocolos de bioseguridad disponibles. Los procedimientos de laboratorio se llevaron a cabo según el manual del estudio y obedecieron a protocolos estandarizados.

5. Resultados y Discusión

5.1 Metodología de cuantificación por SPR de BDNF, NT-3 y NT-4 en plasma humano.

5.1.1. Ensayo de preconcentración

Se determinaron las condiciones de preconcentración para cada uno de los anticuerpos anti-NTs encontrándose el *pH* 4.5 como óptimo para el buffer de acetato en los tres anticuerpos, lo cual se encuentra en concordancia con procesos de ionización parcial que ocurren por debajo del punto isoeléctrico de la proteína. Con relación a estos valores se encontró similitud con los valores de *pH* reportados en estudios previos con la utilización de la metodología de SPR para la determinación de NT-3 y NT-4 en medios condicionados de cultivos celulares (Sanchez Molina, 2016b).

Los ensayos de preconcentración se realizaron con buffer acetato a *pH* 4.1, 4.5 y 5.5; al iniciar los ensayos con la proteína anti-NT-3 se encontró que la respuesta con *pH* 5.5 no presentó características de asociación/disociación, razón por la cual los experimentos se continuaron a *pH* 4.1 y 4.5 para anti-BDNF y *pH* 4.5 para anti-NT-4 como se registra en las curvas de preconcentración en la Figura 5.1. Mediante el comportamiento de las curvas de asociación/disociación se pudo establecer que la mejor interacción se obtuvo a concentración de 10 µg/mL para NT-3 y NT-4 y a 50 µg/mL para BDNF, ver Tabla 5.1.

Figura 5.1 Ensayo de preconcentración

Presenta el valor de pH 4.5 como óptimo para las tres proteínas y concentración de 10 $\mu g/mL$ para NT-3, NT-4 y 50 $\mu g/mL$ para BDNF.

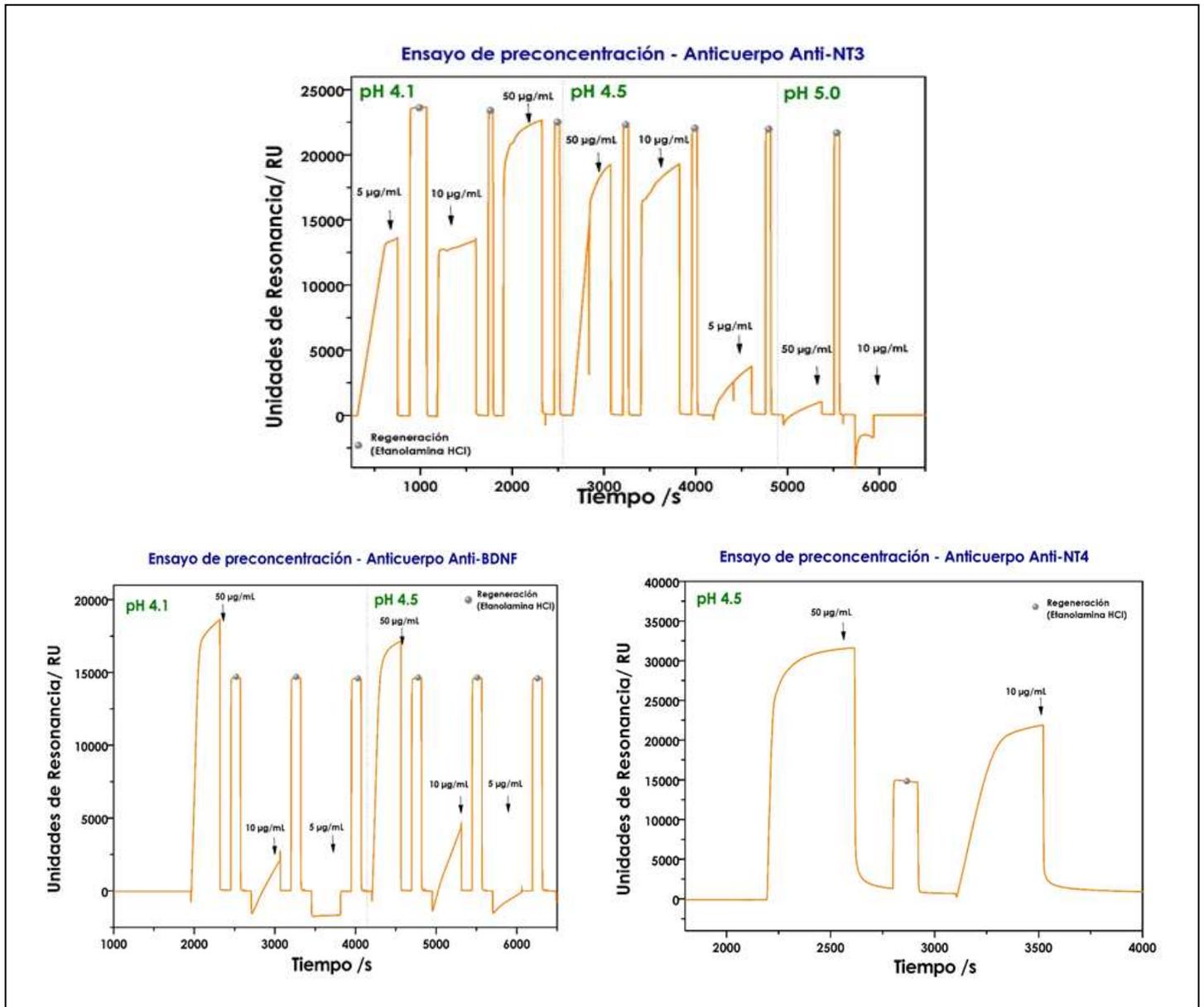


Tabla 5-1. Condiciones óptimas ensayo de preconcentración

	BDNF	NT-3	NT-4
pH			
4.1			
4.5	X	X	X
5.5			
Concentración			
5 µg/mL			
10 µg/mL		X	X
50 µg/mL	X		

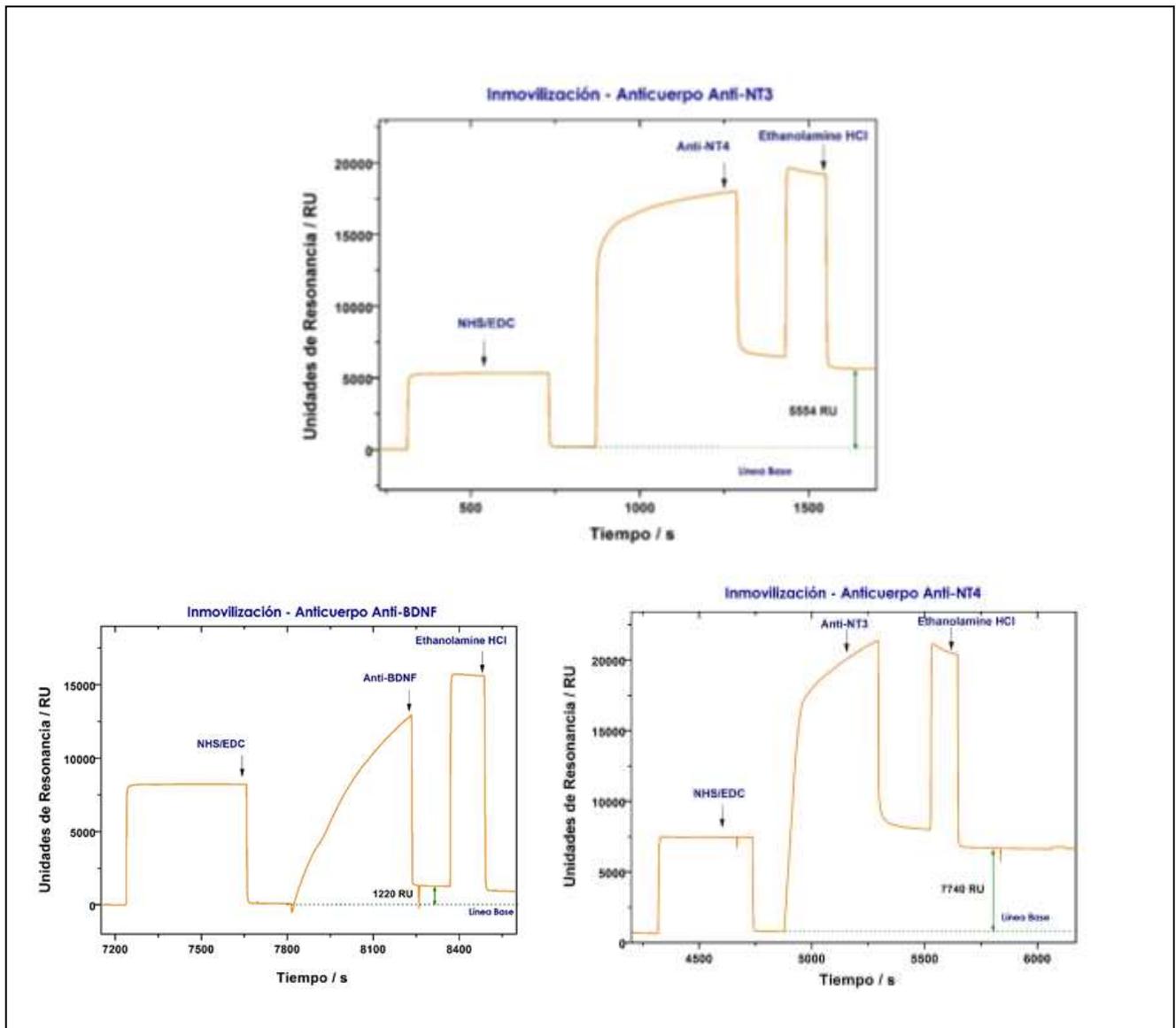
Fuente: Autora

5.1.2. Inmovilización

Una vez encontradas las condiciones óptimas y posterior a la activación funcional de la superficie sensora con EDC-NHS, se obtuvieron las inmovilizaciones individuales para cada uno de los anticuerpos en un rango entre 1000 y 8000 RU. Los valores de inmovilización obtenidos correspondieron a 5554 RU para *anti*-NT-3, 1220 RU para *anti*-BDNF y 7740 RU para *anti*-NT-4 presentando una buena densidad de la inmovilización sobre la superficie sensora y adecuado comportamiento evidenciado en los sensogramas, corroborando que las preconcentraciones fueron elegidas adecuadamente.

5.1.3. Calibración

Para la calibración se hicieron inyecciones de diluciones seriadas de cada proteína recombinante en el rango de 100 a 2500 ng/mL. Con las concentraciones conocidas de las proteínas (bases patrón) y la intensidad de la señal medida en RU, se realizó un análisis de regresión lineal que permitió la determinación de la ecuación de la recta para cada una de las proteínas.

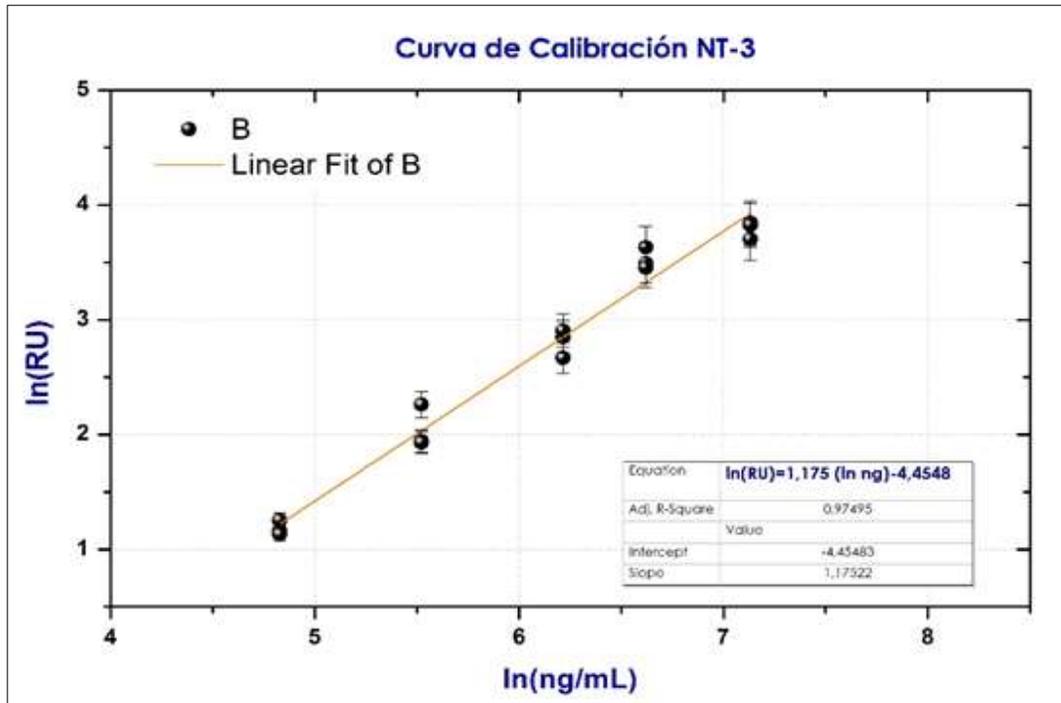
Figura 5.2. Inmovilización de anticuerpos

Fuente: Autora

Mediante la interpolación de los valores de RU y concentración se determinó el coeficiente de determinación (R^2) que permitió establecer una correlación positiva con R^2 mayor a 0.9 para las tres proteínas (NT-3 0,97; NT-4 0,98; BDNF 0,99). La regresión lineal, coeficiente de determinación y ecuación de la recta de cada proteína recombinante se presenta en las Figuras 5.3 a 5.5. La ecuación de la recta de cada proteína fue

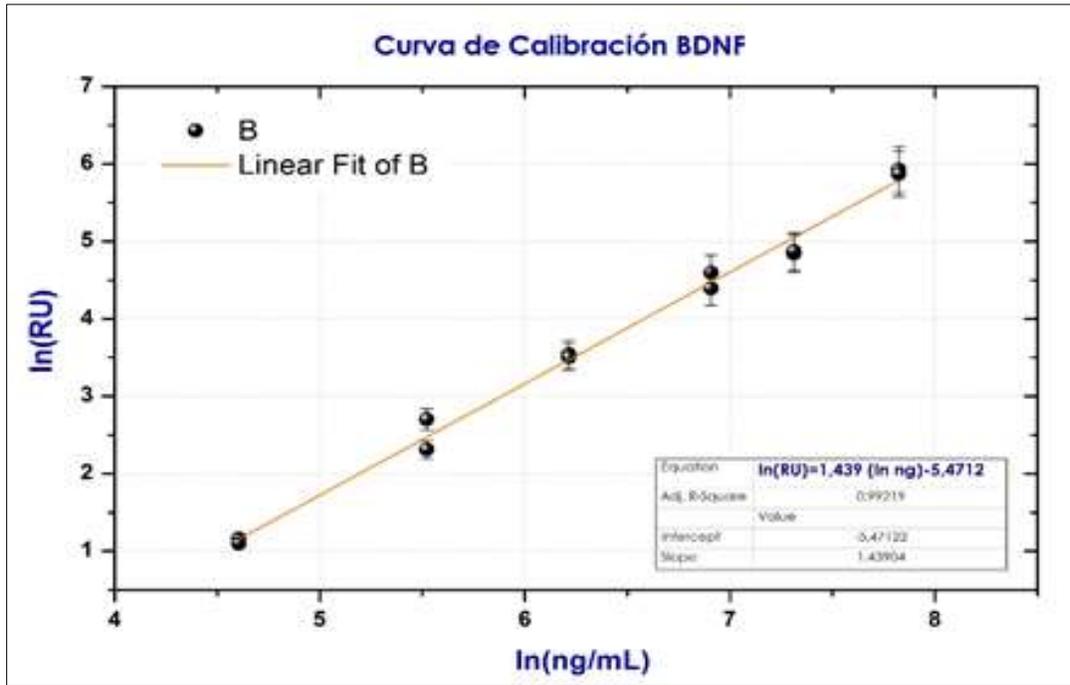
establecida de conformidad con los requerimientos de la ICH (ICH Harmonised Tripartite, 2005).

Figura 5.3 Curva de calibración NT-3



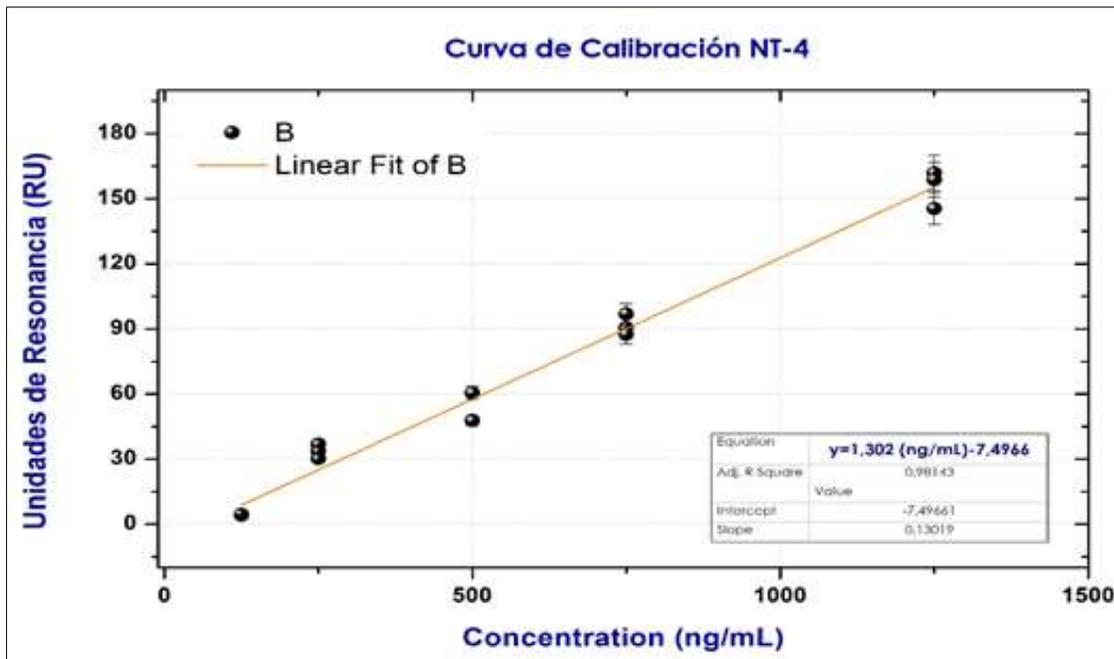
Fuente: Autora

Figura 5.4 Curva de calibración BDNF



Fuente: Autora

Figura 5.5 Curva de calibración NT-4



Fuente: Autora

5.2. Efecto del ejercicio sobre niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4.

La fase clínica del estudio se desarrolló durante el periodo comprendido entre el 1° de Septiembre y el 31 de marzo de 2017 abarcando las fases de reclutamiento, medición de la línea de base e intervención. La fase analítica se desarrolló entre el 1° de Abril al 30 de junio de 2017.

Fueron reclutados 70 individuos, se excluyeron 14 participantes y finalmente fueron aleatorizados 56 individuos que cumplieron los criterios de inclusión. Las razones para la exclusión obedecieron a IMC superior a 35 kg/m², negación voluntaria a continuar con el proceso, inicio de práctica de actividad física programada y condiciones médicas (Figura 5.6). Adicionalmente cinco participantes (2 del grupo control, 2 del grupo PTR y 1 del grupo combinado) fueron excluidos de los análisis de muestras sanguíneas debido a condiciones técnicas del procesamiento de las muestras.

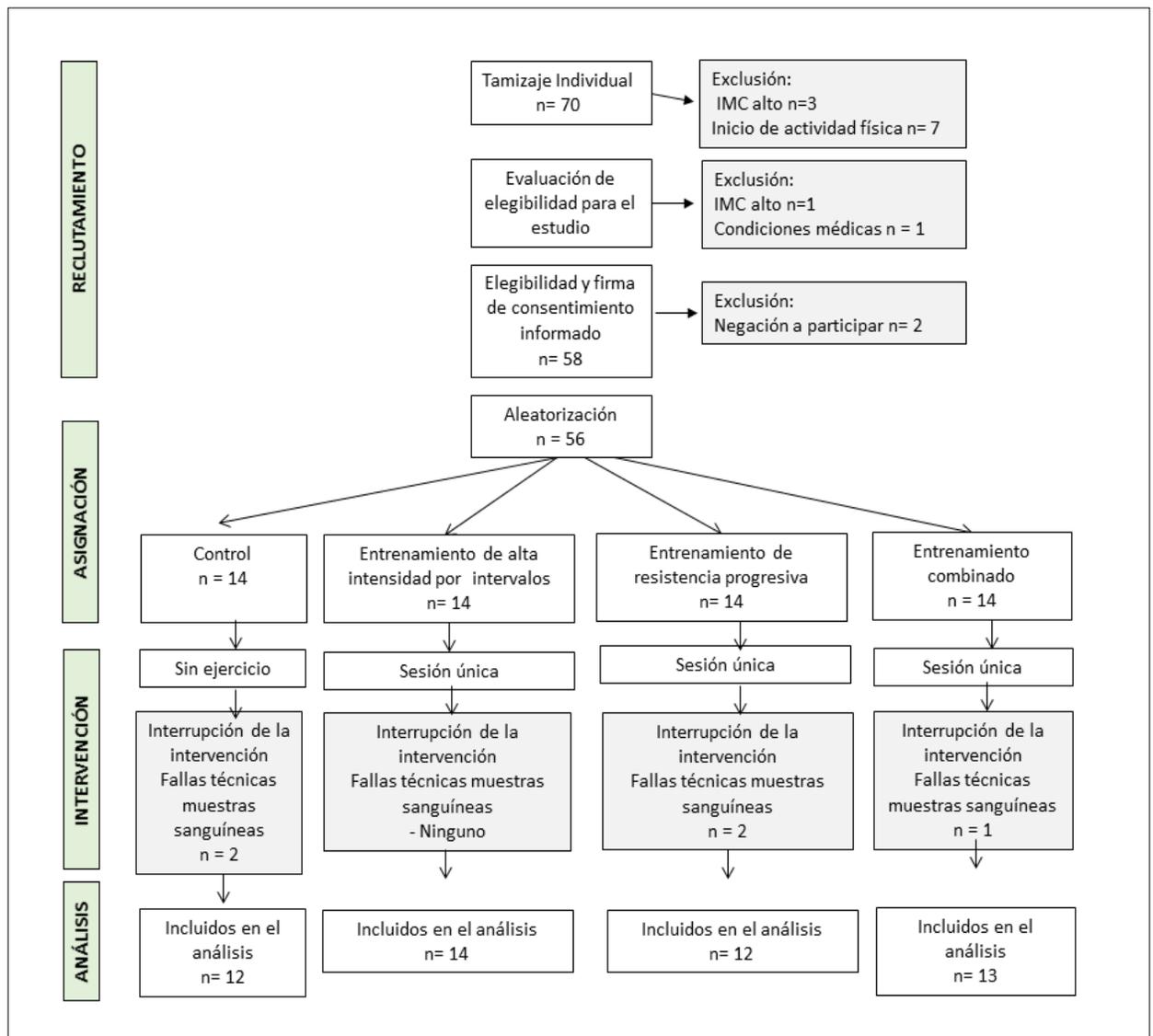
La Tabla 5.2 presenta la estadística descriptiva de la población según los resultados de la línea de base. No se observaron diferencias significativas entre los participantes del grupo.

El protocolo de HIIT presentó un breve incremento de los niveles de BDNF T (11.0 ng/mL [95% CI, 3.9 to 26.0; $d=0.12$]). Adicionalmente, el protocolo de RT también indujo un pequeño incremento en los niveles plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 (15.5 ng/mL [95% CI, 1.2 a 32.3; $d=0.14$], 39.6 ng/mL [95% CI, 2.5 a 76.6; $d=0.19$] y 1.3 ng/mL [95% CI, 0.3 a 2.3; $d=0.17$], respectivamente).

Se presentaron incrementos estadísticamente significativos en el análisis de BDNF en respuesta al régimen de entrenamiento combinado (22.0 ng/mL, 95% CI, 2.6 a 41.5; $d=0.19$) y NT-3 (32.9 ng/mL, 95% CI, 12.4 a 53.4; $d=0.25$). Respecto a los resultados entre grupos, todos los tres protocolos de ejercicio mostraron incrementos de los niveles plasmáticos de BDNF y NT-4 comparado con el grupo control. Adicionalmente el protocolo combinado (84.9 ng/mL, 95% CI, 2.23 a 172.13; $d=0.79$) y el HIIT (124.4 ng/mL, 95% CI, 18.3 a 216.6; $d=0.64$) tuvieron grandes cambios en los niveles plasmáticos de NT-3 comparados con el grupo control. En el análisis por protocolo, el

grupo de entrenamiento combinado (pero no las otras intervenciones) tuvo cambios sustancialmente grandes en los niveles de BDNF (99.7 ng/mL, 95% CI, 22.4 a 176.7; $d=1.01$), NT-3 (89.9 ng/mL, 95% CI, 2.2 a 172.1; $d=0.79$), y NT-4/5 (7.5 ng/mL, 95% CI, 1.7 a 13.3; $d=1.07$) comparado con el grupo control.

Figura 5.6. Diagrama de flujo del estudio



Fuente: Autora

Tabla 5.2. Características de los participantes según línea de base por grupo de entrenamiento.

Características	Grupos de Entrenamiento			
	Control	HIIT	RT	HIIT+RT
	(n=14)	(n=14)	(n=14)	(n=14)
Edad, a	24.7 (3.4)	24.5 (3.7)	22.8 (3.1)	22.2 (3.4)
Peso, kg	88.6 (8.9)	81.7 (6.7)	83.9 (7.4)	80.6 (6.7)
Estatura, m	1.75 (0.05)	1.72 (0.05)	1.68 (0.18)	1.69 (0.05)
BMI, kg/m ²	28.7 (2.0)	27.4 (1.7)	27.8 (1.3)	28.1 (1.2)
Circunferencia de cintura, cm	97.9 (6.3)	95.3 (4.9)	94.1 (4.6)	96.9 (5.8)
Porcentaje de grasa corporal, %	28.7 (4.1)	26.2 (4.3)	27.0 (3.7)	28.1 (3.6)
VO ₂ max, ml·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	41.2 (17.3)	40.6 (16.7)	38.9 (10.5)	37.8 (13.6)
GE durante el ejercicio, Kcal	N.A	462.6 (74.9)	460.9 (86.7)	461.7 (59.1)
Curl de Biceps, 1RM	25.6 (11.6)	23.4 (7.9)	21.9 (10.3)	20.9 (6.9)
Curl Triceps, 1RM	16.1 (5.7)	16.1 (5.3)	17.1 (4.9)	17.9 (4.0)
Dumbbell side lateral, 1RM	9.0 (1.9)	10.8 (3.6)	8.9 (1.9)	10.2 (3.3)
Press militar, 1RM	25.8 (9.4)	23.0 (8.3)	22.8 (13.5)	19.0 (5.1)
Dumbbell squat, 1RM	47.8 (23.0)	55.0 (34.4)	53.3 (14.1)	52.8 (23.5)
Dumbbell front lunge, 1RM	28.4 (7.7)	28.0 (16.2)	22.7 (6.6)	26.3 (10.7)
Fuerza muscular total, (kg; total de 6 ejercicios)	142.7 (43.7)	156.3 (53.4)	136.5 (34.6)	147.2 (38.5)
BDNF, ng/mL	176.7 (133.1)	161.1 (86.5)	166.0 (106.0)	189.1 (107.1)
NT-3, ng/mL	223.3 (39.3)	285.4 (173.4)	315.0 (194.5)	275.2 (121.5)
NT-4/5, ng/mL	10.9 (2.6)	17.9 (9.6)	16.4 (7.2)	17.3 (7.0)

Datos en media (desviación estándar)

Abreviaturas: HIIT, High intensity interval training; RT, resistance training; IMC, índice de masa corporal; GE, gasto energético; VO₂max, fitness cardiorespiratorio; 1RM, una repetición máxima; BDNF, Brain derived neurotrophic factor; NT-3 neurotrofina 3, NT4/5 neurotrofina 4/5; NA, no aplica.

Fuente: Autora

El análisis de regresión reveló una relación positiva significativa entre los cambios en niveles de BDNF y cambios en los niveles de NT-4 de la línea base al momento inmediato post ejercicio en el grupo de entrenamiento combinado ($R^2=0.483$, $p=0.012$; Figura 5.7C) pero no en los otros grupos de intervención. Adicionalmente no se encontró relación entre los cambios en los niveles de BDNF y cambios en los niveles de NT-3 (HIIT, $R^2=0.023$, $p=0.937$; RT, $R^2=0.304$, $p=0.337$, combinado, $R^2=0.255$, $p=0.400$, y grupo control, $R^2=0.358$, $p=0.253$).

Tabla 5.3. Análisis por intención de tratar de BDNF, NT-3 y NT-4 en línea de base y cambios después del efecto agudo del ejercicio.

Características	Media (DE)		Tamaño del efecto	Desde línea de base a agudo , Media (95% CI)		Tamaño del efecto
	Línea base	Agudo		Cambios intragrupo	Diferencia en cambios entre grupos	
BDNF, ng/mL						
HIIT (n=14)	161.1 (86.5)	172.1 (93.6)	0.12	11.0 (3.9 to 26.0) ^a	-	-
RT (n=14)	166.01 (106.0)	181.6 (108.1)	0.14	15.5 (1.2 to 32.3) ^a	-	-
Combinado (n=13)	189.1 (107.1)	211.2 (122.5)	0.19	22 (2.6 to 41.5) ^a	-	-
Control (n=12)	176.7 (133.1)	177.9 (134.1)	0.01	1.1 (-11.6 to 9.2)	-	-
Combinado vs control	-	-	-	-	99.7 (22.4 to 176.7) ^a	1.01
HIIT vs control	-	-	-	-	60.6 (1.9 to 119.1) ^a	0.78
RT vs control	-	-	-	-	70 (1.9 to 141.9) ^a	0.81
Combinado vs HIIT	-	-	-	-	39.0 (-48.3 to 126.5)	0.36
RT vs HIIT	-	-	-	-	9.4 (-73.5 to 92.3)	0.09
Combinado vs RT	-	-	-	-	29.6 (-65.8 to 125.1)	0.25
NT-3, ng/mL						
HIIT (n=14)	285.4 (173.4)	322.4 (200.4)	0.19	37.0 (-81.78 to 7.7)	-	-
RT (n=14)	315.0 (194.5)	354.6 (225.9)	0.19	39.6 (2.59 to 76.62) ^a	-	-
Combinado (n=13)	275.2 (121.5)	308.1 (140.4)	0.25	32.9 (12.4 to 53.4) ^a	-	-
Control (n=12)	223.3 (39.3)	226.9 (38.6)	0.09	3.6 (-16.1 to 8.8)	-	-
Combinado vs control	-	-	-	-	84.9 (2.23 to 172.13) ^a	0.79
HIIT vs control	-	-	-	-	124.4 (18.3 to 216.6) ^a	0.64
RT vs control	-	-	-	-	131.38 (-13.4 to 276.2)	0.79
Combinado vs HIIT	-	-	-	-	14.24 (-151.14 to	0.29

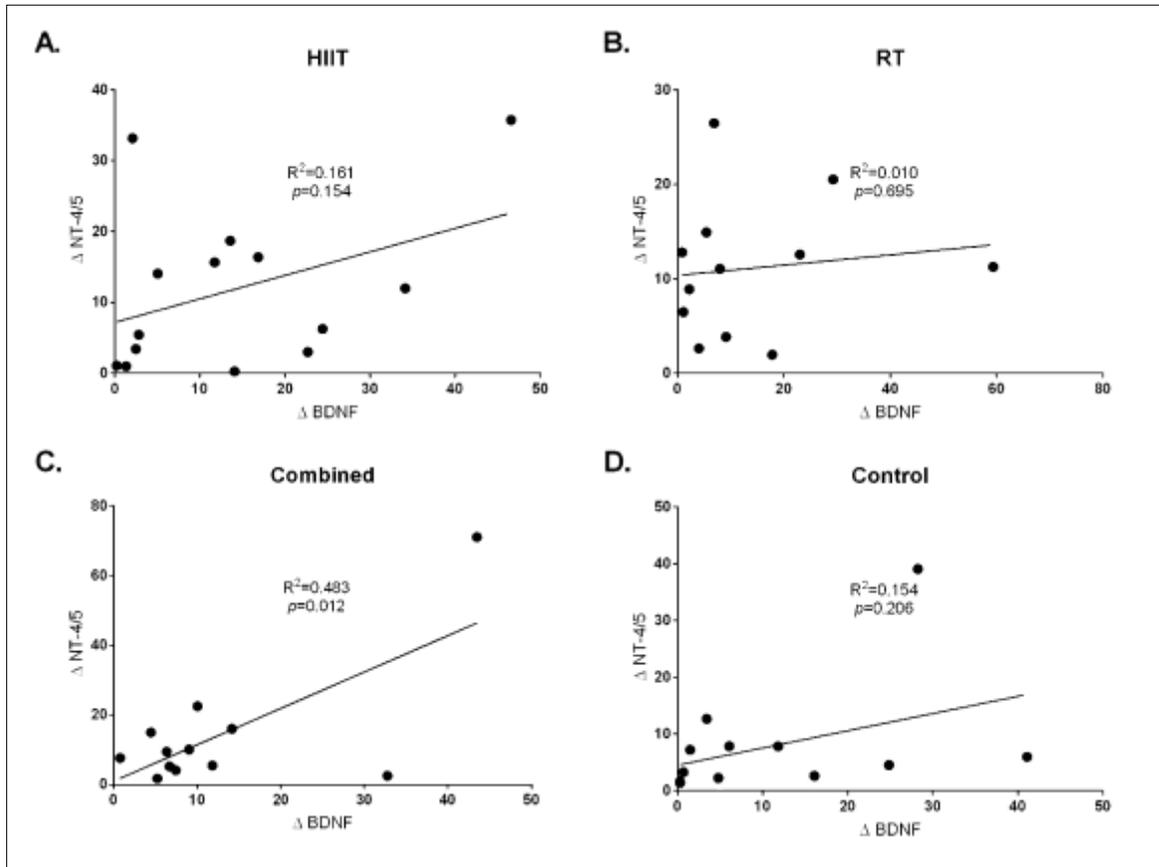
					122.67)	
RT vs HIIT	-	-	-	-	32.24 (-142.7 to 207.2)	0.15
Combinado vs RT	-	-	-	-	46.48 (- 206 to 113.0)	0.29
NT-4/5, ng/mL						
HIIT (n=14)	17.9 (9.6)	18.0 (8.7)	0.01	0.1 (-1.83 to 1.57)	-	-
RT, (n=14)	16.4 (7.2)	17.7 (8.3)	0.17	1.3 (0.3 to 2.3) ^a	-	-
Combinado (n=13)	17.3 (7.0)	18.9 (9.3)	0.19	1.5 (-4.39 to 1.24)	-	-
Control (n=12)	10.9 (2.6)	11.4 (2.6)	0.19	0.5 (-1.3 to 0.2)	-	-
Combinado vs control	-	-	-	-	7.5 (1.7 to 13.3) ^a	1.07
HIIT vs control	-	-	-	-	6.6 (1.4 to 11.4) ^a	0.99
RT vs control	-	-	-	-	6.3 (0.8 to 11.7) ^a	1.00
Combinado vs HIIT	-	-	-	-	0.8 (-6.3 to 8.0)	0.01
RT vs HIIT	-	-	-	-	0.3 (-7.2 to 6.5)	0.04
Combinado vs RT	-	-	-	-	1.2 (-6.1 to 8.5)	0.13

Datos en media (desviación estandar) o (95% CI)

Abreviaturas: HIIT, High intensity interval training; RT, resistance training; BDNF, Brain derived neurotrophic factor; NT-3 neurotrofina 3, NT4/5 neurotrofina 4/5; (-) no aplica; ^a p < 0.05.

Fuente: Autora

Figura 5.7 Cambios en concentraciones plasmáticas de BDNF y NT-4 posterior al entrenamiento de la línea de base al momento inmediato post ejercicio.



Fuente: Autora

El estudio presentado, es el primer ensayo clínico reportado que compara los efectos de HIIT, RT y su combinación sobre los niveles plasmáticos de NT-3, NT-4 y BDNF en adultos inactivos con sobrepeso. Los principales hallazgos fueron que los tres protocolos de ejercicio indujeron cambios en los niveles de BDNF y NT-4 comparado con los niveles en el grupo control, sin embargo los protocolos de ejercicio HIIT y combinado exhibieron cambios significativos sobre los niveles de NT-3 respecto al grupo control. Adicionalmente se observó una relación positiva entre cambios en los niveles de BDNF y

cambios en los niveles de NT-4 de la línea base respecto al momento inmediato postejercicio en el grupo de entrenamiento combinado.

Estos datos proveen evidencia preliminar acerca del papel del ejercicio agudo sobre los factores neurotróficos en adultos con sobrepeso confirmando hallazgos reportados en modelos animales. Además, estos hallazgos sugieren que un protocolo de ejercicio intermitente de alta intensidad puede ser más adecuado en la producción de NTs que protocolos independientes de ejercicio combinado o de resistencia.

Dentro de los protocolos de entrenamiento se observó un incremento en las medias de los niveles plasmáticos de BDNF 8.8% (HIIT), 10,9 % (combinado) y 11.7% (RT) inmediatamente post ejercicio cuando se comparan con la línea de base. Estudios que analizan los efectos agudos del ejercicio de resistencia (Correia et al., 2010; Goekint et al., 2010; Yarrow, White, McCoy, & Borst, 2010) o interválico de alta intensidad (Tonoli et al., 2015) muestran resultados inconsistentes.

El protocolo de ejercicio utilizado estuvo comprendido por ejercicios en una intensidad de 70% de 1 RM con 25-30 repeticiones por ejercicio comparado con protocolos de resistencia, la sesión de entrenamiento de fuerza tuvo períodos de descanso relativamente grandes entre los esfuerzos. En contraste con los hallazgos de este estudio, varios estudios han demostrado que una única sesión de entrenamiento en fuerza no induce cambios significativos en los niveles de BDNF en adultos inactivos sanos (Goekint et al., 2010; Yarrow et al., 2010) Marston (2010) reportó que el uso de un protocolo de ejercicio de resistencia basado en fatiga e hipertrofia provee el estímulo necesario para incrementar los niveles séricos de BDNF.

Las discrepancias observadas en los hallazgos pueden deberse a la muestra poblacional, debido a que los niveles de BDNF se correlacionan con el peso (Lommatzsch et al., 2005); por lo tanto la probabilidad de incremento puede ser grande en la población con sobrepeso incluida en este estudio. Respecto al ejercicio de intervalos de alta intensidad, un estudio previo en 10 individuos inactivos con diabetes tipo I mostró que protocolos de ejercicio de alta intensidad resultan en incrementos importantes de las concentraciones séricas de BDNF que protocolos de ejercicio agudo de intensidad moderada (Correia et

al., 2010) Por lo tanto estos estudios han mostrado que varios aspectos del estímulo de ejercicio (p.e., intensidad, duración y modo de actividad) puede afectar niveles de BDNF. Esto muestra que el ejercicio temporalmente eleva niveles basales de BDNF y posiblemente regula el procesamiento celular de este factor (Knaepen, Goekint, Heyman, & Meeusen, 2010). En estudios futuros, puede ser interesante investigar los efectos de un protocolo intensivo de entrenamiento en fuerza sobre los niveles de BDNF.

De particular interés, se observó que los cambios en BDNF fueron significativamente relacionados con cambios en los niveles de NT-4 desde la línea base al momento inmediatamente postejercicio en el grupo de entrenamiento combinado. Este hallazgo se relaciona con hallazgos también presentes en estudios animales que mostraron relaciones positivas entre la concentración de NT-3 a nivel del hipocampo y la distancia recorrida en banda sin fin ($R^2 = 0.157$, $p < 0.001$) (R. A. Johnson & Mitchell, 2003) De forma similar Chung y cols. (Chung et al., 2013) sugieren que los niveles de NT-4 fueron alterados en respuesta a lesión isquémica y que el ejercicio en banda sin fin juega un papel en los cambios en los niveles de neurotrofinas y sus receptores. El ejercicio en banda sin fin media cambios en la expresión de NT-4 y tirosin kinasa B pudiendo participar en el proceso de recuperación en ratas con daño cerebral. Esto soporta la idea que el incremento en los niveles de factores neurotróficos contribuye a la recuperación funcional (Keyvani, Sachser, Witte, & Paulus, 2004)

Por otra parte, muchas líneas de evidencia soportan una hipótesis en la cual las neurotrofinas, especialmente el BDNF, juega un papel esencial en los comportamientos alimenticios y regulación del peso corporal (George N Chaldakov et al., 2003). En un estudio previo Krabbe y cols. (Krabbe et al., 2009) encontraron que los niveles plasmáticos de BDNF disminuían en humanos con diabetes tipo II, independientemente de la obesidad, sugiriendo que el BDNF puede regular diversos mecanismos de obesidad y resistencia a la insulina. Matthews y cols (Matthews et al., 2009) mostraron que el BDNF parece ser un agente importante no solo en las vías metabólicas centrales sino también como regulador del metabolismo en el músculo esquelético. Estudios en modelos animales y en humanos han mostrado que la expresión reducida de BDNF resulta en el desarrollo de obesidad, hiperfagia e hiperactividad (Dmitrzak-Weglarz et al., 2013; Mercader et al., 2008; Nonomura et al., 2001; Tonra et al., 1999)

En general los estudios han observado una correlación entre bajos niveles séricos de BDNF y altos niveles séricos de proteínas proinflamatorias, incremento de disfunción vascular y factores de riesgo cardiovascular (George N. Chaldakov et al., 2004) Sin embargo hay algunas brechas en la literatura respecto a la obesidad, entrenamiento en ejercicio y subsecuentemente respuestas neurotróficas (Pedersen et al., 2009)

Este estudio tiene un número de fortalezas notables y limitaciones. Debido a que este estudio fue diseñado como estudio piloto para el desarrollo de ensayos más elaborados, el tamaño de la muestra y la duración de la intervención del ejercicio agudo fue modesta, fue ejecutado con individuos físicamente inactivos, lo cual puede complicar la generalización de resultados para una población más activa con sobrepeso; también, el estudio fue ejecutado con voluntarios, lo cual puede llevar a sesgo de muestra. Mientras que estos resultados discuten que este nivel de actividad física es factible para muchos, queda por ver si la duración reportada es la más eficaz.

Interesantemente, a pesar de la evidencia, hay pocos ECA que hayan evaluado directamente los efectos de HIIT, RT o la combinación de estos regímenes (HIIT+ RT) sobre la salud cerebral de adultos inactivos (Barha, Galea, Nagamatsu, Erickson, & Liu-Ambrose, 2017; Dinoff, Herrmann, Swardfager, & Lanctôt, 2017). Por lo tanto se requiere determinar si el HIIT más el RT puede ser una aproximación viable en intervenciones con enfoque de salud pública para incrementar los factores neurotróficos y promover la salud cerebral, particularmente los resultados presentados proporcionan un hallazgo reciente al adjudicar que el HIIT más un entrenamiento de resistencia de alto volumen es consistentemente mejor asociada con cambios positivos en las anormalidades metabólicas que el entrenamiento de resistencia/fuerza muscular aislado.

Por otra parte la metodología de cuantificación permitió el análisis de los factores neurotróficos en plasma humano, estableciéndose a la fecha como el primer ECA que mide el efecto del ejercicio físico sobre los factores neuróficos mediante la implementación de metodologías de medición proteica en tiempo real, en especial SPR.

6. Conclusiones y recomendaciones

a. Conclusiones

Los resultados de este estudio indican que el uso de varios protocolos de ejercicio (p.e. la resistencia progresiva basada en fatiga hipertrófica o el entrenamiento combinado) provee el estímulo necesario para incrementar los niveles periféricos plasmáticos de neurotrofinas en los individuos inactivos con sobrepeso. Basado en estos hallazgos, por lo tanto, el uso de entrenamiento de alta intensidad por intervalos puede ser considerado en programas de ejercicio para promover la posibilidad de un potencial efecto metabotrópico beneficioso para los individuos debido al incremento de la expresión de factores neurotróficos. Estudios longitudinales adicionales pueden desarrollarse para establecer los efectos del ejercicio y el entrenamiento sobre la función cognitiva en adultos con sobrepeso.

b. Recomendaciones

Para futuros diseños de investigación, sería interesante la exploración de los mecanismos propuestos en este estudio a través de metodologías que complementen la producción de NTs con la expresión celular de receptores, además de comparar el efecto agudo versus crónico del ejercicio físico y explorar los comportamientos en poblaciones sin sobrepeso.

A. Anexo: Logo del Estudio



B. Anexo: Material Publicitario

Si eres hombre, entre 18 a 30 años,
no haces actividad física y quieres
mejorar tu condición de salud
¡Esta información te interesa!

Un grupo de investigadores te invitan a hacer parte de un estudio que quiere medir los efectos del ejercicio en la plasticidad cerebral: **BrainFit**

Y darte indicaciones para que mejores tu salud y aprendas a ejercitarte.

Si quieres participar solo llena esta encuesta y te contactaremos.

<https://es.surveymonkey.com/r/JGNFVWT>



C.Anexo: Consentimiento informado



EFFECTO DE DIFERENTES INTERVENCIONES DE EJERCICIO FÍSICO AGUDO SOBRE NIVELES PLASMÁTICOS DE BDNF, NT-3 y NT-4 EN ADULTOS JÓVENES CON SOBREPESO

La Maestría en Neurociencias de la Universidad Nacional, y el Grupo de investigación CEMA de la Universidad del Rosario, se encuentra adelantado el trabajo denominado “*Efecto de Diferentes Intervenciones de Ejercicio Físico Agudo Sobre Niveles Plasmáticos de BDNF, NT-3 y NT-4 en Adultos con Sobrepeso*”. Usted en condición de participante voluntario, ha sido elegido de acuerdo a los criterios de inclusión del estudio para formar parte de una muestra representativa donde participará como sujeto de investigación.

Propósito del estudio: esta es una investigación que tiene como objetivo determinar el efecto de diferentes intervenciones de ejercicio físico agudo, sobre niveles plasmáticos de neurotrofinas (BDNF, NT-3 y NT-4), en adultos jóvenes con sobrepeso.

Procedimiento: el estudio se desarrolla en diferentes momentos que suponen la recolección de información mediante varios tipos de procedimientos: medidas antropométricas, encuestas, muestras sanguíneas, pruebas motoras e intervención de ejercicio, el cual bajo una determinación aleatoria indicará la necesidad o no de realizar dicha prueba; esto se realizará de la siguiente manera:

Medidas antropométricas: consiste en registrar parámetros como, la talla, el peso, 2 dimensiones del cuerpo (circunferencia de cintura y cadera), además se realizará también la toma de la tensión arterial.

Encuestas: se registrará mediante una encuesta los antecedentes de salud para conocer posibles problemas de enfermedad, los medicamentos que recibe actualmente y algunas de las enfermedades que han ocurrido en su familia, así mismo se registrará información demográfica como el estado civil, estrato socioeconómico, entre otros. Adicionalmente, se realizará una entrevista de nutrición y otra sobre percepción de la condición física. Se solicita que la información consignada en estos instrumentos sea totalmente confiable y verídica, para garantizar los resultados del estudio.

Marcador biológico: para la realización de este procedimiento, se necesita que usted haya seguido las indicaciones previas a la participación, donde deberá estar completamente en ayunas (8 a 12 horas después de la última comida). Se realizarán dos tomas de muestra sanguínea (antes y después de la realización de la actividad física). La sangre será recogida en tubos plásticos estériles por un personal especializado, siguiendo todas las normativas de seguridad séptica.

Pruebas motoras: se evaluará la fuerza mediante tres pruebas: dinamometría manual (fuerza prensil), salto vertical y salto horizontal.

Intervención de ejercicio: en dependencia de la elección aleatoria se elegirá el tipo de ejercicio a realizar o la ausencia de este. La realización de ejercicio puede darse en cualquiera de las 3 formas:

1. Cicloergómetro (bicicleta estática): ejercicio de alta intensidad.
2. Banda: ejercicio moderado.
3. Combinación de los 2 anteriores.

Esta prueba tiene una duración aproximada de 1 hora, previa a la realización del ejercicio se darán las indicaciones necesarias, guiados siempre por un profesional del deporte quien será el encargado de este

procedimiento. Durante la realización de la intervención se hará un constante monitoreo en el control de la frecuencia cardiaca (FC), la tensión arterial (TA) y la percepción del ejercicio.

Finalización de la intervención: al finalizar la intervención de ejercicio se le brindará un desayuno, posteriormente se le entregaran algunos resultados de las pruebas de perfil lipídico y glicemia y unas recomendaciones con lo que finalizará completamente su participación. Aproximadamente en el mes de Junio de 2017 le será enviado a su correo electrónico los resultados de los valores de neurotrofinas posterior a su análisis y una interpretación de los resultados. Lo anterior no representa ningún tipo de diagnóstico médico de condiciones de salud, pero de presentarse algún signo de alarma como resultado de las pruebas ejecutadas le

será informado por el personal del estudio para que usted pueda acceder al servicio médico de su elección y obtener una opinión de un profesional médico acerca de su condición de salud.

Beneficios de la participación en el estudio: usted podrá obtener como beneficio las recomendaciones necesarias para un control médico, en caso de que sea detectada una anomalía en las pruebas de laboratorio o durante el examen físico. En caso de que esto se presente, será informado por uno de los investigadores de manera verbal y por escrito. Los resultados de laboratorio serán enviados su correo electrónico o podrá conocerlo directamente en la Universidad del Rosario. Los resultados de este estudio contribuyen a la realización de proyectos que promuevan medidas de recomendación preventiva a largo plazo ya que a la fecha en nuestro sistema de salud no se conoce el tipo o intensidad de ejercicio que pueda afectar la función arterial, su peso corporal, los lípidos, la glucosa, la densidad de sus hueso, entre otros indicadores de su salud.

Riesgos e incomodidades: por la experiencia de los investigadores, se puede afirmar que ninguna de las evaluaciones implementadas suponen de un riesgo mayor para la integridad física o moral de la personas puesto que han sido cuidadosamente seleccionadas conforme a las características de la población a estudiar, no obstante, para el caso de las pruebas motoras es importante que el participante realice un adecuado calentamiento previo a su desarrollo para disminuir considerablemente riesgos osteomusculares durante las actividades. Si por alguna razón resultara algún inconveniente, la Universidad del Rosario tiene un servicio de emergencias que respalda en estos casos. Por otra parte, usted podrá sentir algo de angustia o temor en el momento de la extracción de sangre venosa, así como también sentir cansancio general por la práctica de los ejercicios, sin embargo, esto es normal en la rutina de entrenamiento.

Derechos del participante en el estudio: su participación en el estudio es completamente voluntaria. Si usted no quiere participar, no tendrá ninguna consecuencia. Adicionalmente, después de iniciado el estudio, usted podrá retirarse en cualquier momento y por cualquier razón esto tampoco traerá consecuencias. Usted tiene derecho a conocer nuevas informaciones con respecto al estudio en el caso de que las hubiera. Su única responsabilidad en el estudio es brindar la mayor veracidad en sus respuestas durante las encuestas realizadas. En caso de que tenga preguntas adicionales sobre el estudio usted puede contactar al Dr. Robinson Ramirez Velez cel: 3128604772, correo electrónico: ramirez.robinson@urosario.edu.co o a María Andrea Domínguez cel 3132092269, correo electrónico: 3132092269.

Confidencialidad: La parte investigadora deja constancia que para la recolección de la información el participante no se identificará con su nombre en ninguno de los formatos que sean diligenciados y se velará por la confidencialidad de la información consignada. Para esto, internamente se asignará un código de identificación para el estudio y la información recaudada solamente se utilizará para ser procesada con propósitos académicos, garantizando la privacidad de la misma. El participante tendrá derecho a solicitar información sobre sus registros y el significado de los mismos, la parte investigadora coordinará las acciones pertinentes para retroalimentar a quien así lo requiera.

Costo de participación: Ninguno. El equipo de investigación asume el costo de las pruebas de laboratorio, el pago del programa de ejercicio, los exámenes especializados y otros que se requieran.

Consentimiento: Declaro que he leído y he sido informado claramente sobre todos y cada uno de los procedimientos a seguir. Todas mis preguntas sobre este estudio y mi participación han sido atendidas y voluntariamente acepto contribuir al presente estudio en calidad de sujeto de investigación, comprometiéndome a participar en cada una de las sesiones de evaluación, respondiendo verazmente las encuestas, siguiendo los protocolos de evaluación tal como se me solicite y desplegando mi mayor esfuerzo y colaboración.

Usted recibe además una copia del presente documento. _____

Lugar y Fecha

Nombre del participante	Firma y Cédula	Lugar y Fecha
Nombre del investigador principal	Firma y Cédula	Lugar y Fecha
Nombre de testigo 1 Teléfono:	Firma y Cédula	Lugar y Fecha

Nombre de testigo 1

Firma y Cédula

Lugar y Fecha

Bibliografía

- Afzalpour, M. E., Chadorneshin, H. T., Foadoddini, M., & Eivari, H. A. (2015). Comparing interval and continuous exercise training regimens on neurotrophic factors in rat brain. *Physiology & Behavior*, *147*, 78–83.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.04.012>
- Ahmad, S. I. (2012). *Neurodegenerative Diseases*. [electronic resource]. New York, NY : Springer US, 2012. Retrieved from
<http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat02704a&AN=unc.000782637&lang=es&site=eds-live>
- Aloe, L. (2004). Rita Levi-Montalcini: the discovery of nerve growth factor and modern neurobiology. *Trends in Cell Biology*, *14*(7), 395–399.
<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2004.05.011>
- Araya, A. V., Orellana, X., Godoy, D., Soto, L., & Fiedler, J. (2013a). Effect of exercise on circulating levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in overweight and obese subjects. *Hormone and Metabolic Research*, *45*(7), 541–544.
- Araya, A. V., Orellana, X., Godoy, D., Soto, L., & Fiedler, J. (2013b). Effect of exercise on circulating levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in overweight and obese subjects. *Hormone and Metabolic Research*, *45*(7), 541–544.
- Argüello Gutiérrez, Y. P., & Mockus Sivickas, I. V. O. (2011). *Efectos del ejercicio aeróbico sobre globulina enlazante de hormonas sexuales y sensibilidad a insulina en mujeres jóvenes con sobrepeso*. [recurso electrónico]. Bogotá.

Retrieved from

<http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat02704a&AN=unc.000445155&lang=es&site=eds-live>

- Atwal, J. K., Massie, B., Miller, F. D., & Kaplan, D. R. (2000). The TrkB-Shc site signals neuronal survival and local axon growth via MEK and PI3-kinase. *Neuron*, 27(2), 265–277.
- Barde, Y.-A., Edgar, D., & Thoenen, H. (1982). Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *The EMBO Journal*, 1(5), 549.
- Barha, C. K., Galea, L. A., Nagamatsu, L. S., Erickson, K. I., & Liu-Ambrose, T. (2017). Personalising exercise recommendations for brain health: considerations and future directions. *British Journal of Sports Medicine*, 51(8), 636–639.
<https://doi.org/10.1136/bjsports-2016-096710>
- Bathina, S., & Das, U. N. (2015). Brain-derived neurotrophic factor and its clinical implications. *Archives of Medical Science: AMS*, 11(6), 1164–1178.
<https://doi.org/10.5114/aoms.2015.56342>
- Berkemeier, L. R., Winslow, J. W., Kaplan, D. R., Nikolics, K., Goeddel, D. V., & Rosenthal, A. (1991). Neurotrophin-5: a novel neurotrophic factor that activates trk and trkB. *Neuron*, 7(5), 857–866.
- Biacore AB. (1994). *Biacore Technology Handbook*.
- Biosensing Instrument. (2007). Technical Note 102: SPR Sensitivity and Detection Limit. Retrieved August 15, 2017, from <http://biosensingusa.com/technical-notes/technical-note-102-spr-sensitivity-detection-limit/>
- Błaszczuk, E., & Gawlik, A. (2016). Neurotrophins, VEGF and matrix metalloproteinases: new markers or causative factors of metabolic syndrome components?

- Neurotrofiny, VEGF I Metaloproteinazy Macierzowe: Nowe Markery Czy Czynniki Sprawcze Składowych Zespołu Metabolicznego?*, 22(3), 125.
- Blondel, O., Collin, C., McCarran, W. J., Zhu, S., Zamostiano, R., Gozes, I., ... McKay, R. D. (2000). A glia-derived signal regulating neuronal differentiation. *The Journal of Neuroscience*, 20(21), 8012–8020.
- Borg, G. (1990). Psychophysical scaling with applications in physical work and the perception of exertion. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 55–58.
- Bothwell, M. (2014). NGF, BDNF, NT3, and NT4. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 220, 3–15. https://doi.org/10.1007/978-3-642-45106-5_1
- Bradshaw, R. A., Blundell, T. L., Lapatto, R., McDonald, N. Q., & Murray-Rust, J. (1993). Nerve growth factor revisited. *Trends in Biochemical Sciences*, 18(2), 48–52.
- Bredesen, D. E., Rao, R. V., & Mehlen, P. (2006). Cell death in the nervous system. *Nature*, 443(7113), 796–802.
- Brigadski, T., Hartmann, M., & Lessmann, V. (2005a). Differential vesicular targeting and time course of synaptic secretion of the mammalian neurotrophins. *The Journal of Neuroscience*, 25(33), 7601–7614.
- Brigadski, T., Hartmann, M., & Lessmann, V. (2005b). Differential vesicular targeting and time course of synaptic secretion of the mammalian neurotrophins. *The Journal of Neuroscience*, 25(33), 7601–7614.
- Brown, L. E., & Weir, J. P. (2001). ASEP PROCEDURES RECOMMENDATION I: ACCURATE ASSESSMENT OF MUSCULAR STRENGTH AND POWER. *Professionalization of Exercise Physiology*, 4(11), 1.
- Bruce, R. A. (1971). Exercise testing of patients with coronary heart disease. Principles and normal standards for evaluation. *Annals of Clinical Research*, 3(6), 323–332.

- Bruce, R. A., Blackmon, J. R., Jones, J. W., & Strait, G. (1963). Exercising testing in adult normal subjects and cardiac patients. *Pediatrics*, *32*(4), 742–756.
- Bustos, R. H., Magdy Sánchez, M., Dominguez, M. A., Barreto, G. E., Lancheros, D., & Reynolds, J. (2017). Nanotechnology In Neurosciences: An Approach. *Current Pharmaceutical Design*. <https://doi.org/10.2174/1381612823666170816115452>
- Bustos, R. H., Suesca, E., Millán, D., González, J. M., & Fontanilla, M. R. (2014). Real-time quantification of proteins secreted by artificial connective tissue made from uni-or multidirectional collagen I scaffolds and oral mucosa fibroblasts. *Analytical Chemistry*, *86*(5), 2421–2428.
- Cai, D. (2013). Neuroinflammation and neurodegeneration in overnutrition-induced diseases. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *24*(1), 40–47.
<https://doi.org/10.1016/j.tem.2012.11.003>
- Carter, B. D., Kaltschmidt, C., Kaltschmidt, B., Offenhäuser, N., Böhm-Matthaei, R., Baeuerle, P. A., & Barde, Y. A. (1996). Selective activation of NF-kappa B by nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75. *Science (New York, N. Y.)*, *272*(5261), 542–545.
- Casaccia-Bonnet, P., Carter, B. D., Dobrowsky, R. T., & Chao, M. V. (1996). Death of oligodendrocytes mediated by the interaction of nerve growth factor with its receptor p75. *Nature*, *383*(6602), 716–719. <https://doi.org/10.1038/383716a0>
- Cassilhas, R. C., Tufik, S., & de Mello, M. T. (2016). Physical exercise, neuroplasticity, spatial learning and memory. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, *73*(5), 975–983. <https://doi.org/10.1007/s00018-015-2102-0>
- Cell Signaling Technology. (2003). BDNF (human). Retrieved August 15, 2017, from <http://www.phosphosite.org/proteinAction?id=23948&showAllSites=true>

- Chaldakov, G. N., Fiore, M., Hristova, M. G., & Aloe, L. (2003). Metabotropic potential of neurotrophins: implication in obesity and related diseases? *Medical Science Monitor: International Medical Journal Of Experimental And Clinical Research*, 9(10), HY19-HY21.
- Chaldakov, G. N., Fiore, M., Stankulov, I. S., Hristova, M., Antonelli, A., Manni, L., ... Aloe, L. (2001). NGF, BDNF, leptin, and mast cells in human coronary atherosclerosis and metabolic syndrome. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 109(4), 357–360. <https://doi.org/10.1076/apab.109.4.357.4249>
- Chaldakov, G. N., Fiore, M., Stankulov, I. S., Manni, L., Hristova, M. G., Antonelli, A., ... Aloe, L. (2004). Neurotrophin presence in human coronary atherosclerosis and metabolic syndrome: a role for NGF and BDNF in cardiovascular disease? In *Progress in Brain Research* (Vol. 146, pp. 279–289). Elsevier. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612303460184>
- Chao, M. V. (2003). Neurotrophins and their receptors: a convergence point for many signalling pathways. *Nature Reviews. Neuroscience*, 4(4), 299.
- Chung, J.-Y. (1), Kim, M. (1), Kim, M.-W. (2, 4), & Bang, M.-S. (3). (2013). Increased Expression of Neurotrophin 4 Following Focal Cerebral Ischemia in Adult Rat Brain with Treadmill Exercise. *PLoS ONE*, 8(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052461>
- CIBERES :: Centro de investigación en red de enfermedades respiratorias. (n.d.). Retrieved September 28, 2016, from <http://www.ciberes.org/>
- Colcombe, S. J., Kramer, A. F., Erickson, K. I., Scalf, P., McAuley, E., Cohen, N. J., ... Elavsky, S. (2004). Cardiovascular fitness, cortical plasticity, and aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(9), 3316–3321. <https://doi.org/10.1073/pnas.0400266101>

- Conner, J. M. (2001). Localization of neurotrophin proteins within the central nervous system by immunohistochemistry. *Neurotrophin Protocols*, 3–19.
- Conner, J. M., & Tuszynski, M. H. (2009). *Neurotrophins: Physiology and Pharmacology*. Elsevier, Inc. Retrieved from <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsgvr&AN=edsgcl.4098500926&lang=es&site=eds-live>
- Correia, P. R., Pansani, A., Machado, F., Andrade, M., Silva, A. C. da, Scorza, F. A., ... Arida, R. M. (2010). Acute strength exercise and the involvement of small or large muscle mass on plasma brain-derived neurotrophic factor levels. *Clinics (Sao Paulo, Brazil)*, 65(11), 1123–1126.
- Corripio, R., González-Clemente, J.-M., Jacobo, P.-S., Silvia, N., Lluís, G., Joan, V., & Assumpta, C. (2012). Plasma brain-derived neurotrophic factor in prepubertal obese children: results from a 2-year lifestyle intervention programme. *Clinical Endocrinology*, 77(5), 715–720. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2012.04431.x>
- Cotman, C. W., Berchtold, N. C., & Christie, L.-A. (2007). Exercise builds brain health: key roles of growth factor cascades and inflammation. *Trends in Neurosciences*, 30(9), 464–472. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.06.011>
- da Silva, P. G. C., Domingues, D. D., de Carvalho, L. A., Allodi, S., & Correa, C. L. (2016). Neurotrophic factors in Parkinson's disease are regulated by exercise: Evidence-based practice. *Journal of the Neurological Sciences*, 363, 5–15.
- Dieni, S., Matsumoto, T., Dekkers, M., Rauskolb, S., Ionescu, M. S., Deogracias, R., ... Barde, Y.-A. (2012). BDNF and its pro-peptide are stored in presynaptic dense core vesicles in brain neurons. *The Journal of Cell Biology*, 196(6), 775–788. <https://doi.org/10.1083/jcb.201201038>

- Dierssen, M., Gratacòs, M., Sahún, I., Martín, M., Gallego, X., Amador-Arjona, A., ... Estivill, X. (2006). Transgenic mice overexpressing the full-length neurotrophin receptor TrkC exhibit increased catecholaminergic neuron density in specific brain areas and increased anxiety-like behavior and panic reaction. *Neurobiology of Disease*, 24(2), 403–418. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.07.015>
- Dietrich, M. O., & Horvath, T. L. (2009). Feeding signals and brain circuitry. *The European Journal of Neuroscience*, 30(9), 1688–1696. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2009.06963.x>
- Dinoff, A., Herrmann, N., Swardfager, W., & Lanctôt, K. L. (2017). The effect of acute exercise on blood concentrations of brain-derived neurotrophic factor in healthy adults: a meta-analysis. *The European Journal of Neuroscience*, 46(1), 1635–1646. <https://doi.org/10.1111/ejn.13603>
- Dinoff, A., Herrmann, N., Swardfager, W., Liu, C. S., Sherman, C., Chan, S., & Lanctôt, K. L. (2016). The Effect of Exercise Training on Resting Concentrations of Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): A Meta-Analysis. *PloS One*, 11(9), e0163037. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163037>
- Dmitrzak-Weglarz, M., Skibinska, M., Słopien, A., Tyszkiewicz, M., Pawlak, J., Maciukiewicz, M., ... Hauser, J. (2013). Serum neurotrophin concentrations in polish adolescent girls with anorexia nervosa. *Neuropsychobiology*, 67(1), 25–32. <https://doi.org/10.1159/000343500>
- Dobrowsky, R. T., Werner, M. H., Castellino, A. M., Chao, M. V., & Hannun, Y. A. (1994). Activation of the sphingomyelin cycle through the low-affinity neurotrophin receptor. *Science (New York, N.Y.)*, 265(5178), 1596–1599.

- Douw, L., Nieboer, D., van Dijk, B. W., Stam, C. J., & Twisk, J. W. R. (2014). A healthy brain in a healthy body: brain network correlates of physical and mental fitness. *PloS One*, *9*(2), e88202. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088202>
- Duricki, D. (2012). Functional recovery in young adult and aged rats following delayed, intramuscular treatment with neurotrophin-3 after focal stroke injury.
- Ehrenreich, H. (2004). A Boost for Translational Neuroscience. *Science*, *305*(5681), 184.
- Elizondo, J. H., & Rojas, W. S. (2001). Comparación de dos técnicas de salto con caída, para mejorar el rendimiento de la potencia de piernas en jugadores de baloncesto. *Pensar En Movimiento: Revista de Ciencias Del Ejercicio Y La Salud*, *1*(1), 34–41.
- Eyben, F. E., Mouritsen, E., & Holm, J. (2003). Intra-abdominal obesity and metabolic risk factors: a study of young adults. *Int J Obes.*, *27*.
<https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0802309>
- Fernandes, J., Arida, R. M., & Gomez-Pinilla, F. (2017). Physical exercise as an epigenetic modulator of brain plasticity and cognition. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *80*, 443–456.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.06.012>
- Fonseca-Centeno, Z., Heredia-Vargas, A. P., Ocampo-Téllez, R., Forero-Torres, Y., Sarmiento-Dueñas, O. L., & Álvarez-Urbe, M. C. (2011). Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia 2010-ENSIN. *Bogotá, DC: Instituto Colombiano de Bienestar Familiar*.
- Fox, E. A., & Byerly, M. S. (2004). A mechanism underlying mature-onset obesity: evidence from the hyperphagic phenotype of brain-derived neurotrophic factor mutants. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, *286*(6), R994-1004.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00727.2003>

- Fragala, M. S., Kraemer, W. J., Denegar, C. R., Maresh, C. M., Mastro, A. M., & Volek, J. S. (2011). Neuroendocrine-immune interactions and responses to exercise. *Sports Medicine*, *41*(8), 621–639.
- Frankenfield, D., Roth-Yousey, L., & Compher, C. (2005). Comparison of predictive equations for resting metabolic rate in healthy nonobese and obese adults: a systematic review. *Journal of the American Dietetic Association*, *105*(5), 775–789. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2005.02.005>
- FURTH, M. E., RONALD, M. L., & GEORGE, D. Y. (1990). Neurotrophin-3: a neurotrophic factor related to NGF and BDNF.
- GÃ, R., Winkler, C., Raulf, F., Lottspeich, F., Scharl, M., & Thoenen, H. (1994). Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature*, *372*(6503), 266.
- Galvin, K. A., & Oorschot, D. E. (2003). Continuous low-dose treatment with brain-derived neurotrophic factor or neurotrophin-3 protects striatal medium spiny neurons from mild neonatal hypoxia/ischemia: a stereological study. *Neuroscience*, *118*(4), 1023–1032.
- García-Suárez, O., González-Martínez, T., Perez-Perez, M., Germana, A., Blanco-Gélaz, M. A., Monjil, D. F., ... Vega, J. A. (2006). Expression of the neurotrophin receptor TrkB in the mouse liver. *Anatomy and Embryology*, *211*(5), 465–473. <https://doi.org/10.1007/s00429-006-0098-9>
- Gibala, M. (2009). Molecular responses to high-intensity interval exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.*, *34*. <https://doi.org/10.1139/H09-046>
- Gibala, M. J., Little, J. P., & Macdonald, M. J. (2012). Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *J Physiol.*, *590*. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.224725>

- Gleeson, M., Bishop, N. C., Stensel, D. J., Lindley, M. R., Mastana, S. S., & Nimmo, M. A. (2011). The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews. Immunology*, 11(9), 607.
- Goekint, M., De Pauw, K., Roelands, B., Njemini, R., Bautmans, I., Mets, T., & Meeusen, R. (2010). Strength training does not influence serum brain-derived neurotrophic factor. *European Journal of Applied Physiology*, 110(2), 285–293.
<https://doi.org/10.1007/s00421-010-1461-3>
- Gómez, N., & Mockus Sivickas, I. V. O. (2016). MicroRNAs: Marcadores séricos en diabetes mellitus tipo 2 y ejercicio físico / MicroRNAs: circulating biomarkers in type 2 Diabetes Mellitus and physical exercise. *Revista Médica de Chile*, (3), 355.
- Gómez-Pinilla, F., Ying, Z., Opazo, P., Roy, R. R., & Edgerton, V. R. (2001). Differential regulation by exercise of BDNF and NT-3 in rat spinal cord and skeletal muscle. *The European Journal of Neuroscience*, 13(6), 1078–1084.
- Gómez-Pinilla, F., Ying, Z., Roy, R. R., Molteni, R., & Edgerton, V. R. (2002). Voluntary exercise induces a BDNF-mediated mechanism that promotes neuroplasticity. *Journal of Neurophysiology*, 88(5), 2187–2195.
<https://doi.org/10.1152/jn.00152.2002>
- González Carreño, J. M., Fontanilla Duque, M. R., & Bustos Cruz, R. E. (2011). *Evaluación de la expresión de factores de crecimiento involucrados en la reparación de heridas mucosas en tejido conectivo mucoso artificial. [recurso electrónico]*. Bogotá. Retrieved from <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat02704a&AN=unc.000444842&lang=es&site=eds-live>

- Gordon, B. A., Rykhlevskaia, E. I., Brumback, C. R., Lee, Y., Elavsky, S., Konopack, J. F., ... Fabiani, M. (2008). Neuroanatomical correlates of aging, cardiopulmonary fitness level, and education. *Psychophysiology*, *45*(5), 825–838.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2008.00676.x>
- Hamburger, V. (1934). The effects of wing bud extirpation on the development of the central nervous system in chick embryos. *Journal of Experimental Zoology*, *68*(3), 449–494.
- Hamburger, V. (1939). Motor and sensory hyperplasia following limb-bud transplantations in chick embryos. *Physiological Zoology*, *12*(3), 268–284.
- Hamburger, V., & Levi-Montalcini, R. (1949). Proliferation, differentiation and degeneration in the spinal ganglia of the chick embryo under normal and experimental conditions. *Journal of Experimental Zoology*, *111*(3), 457–501.
- Hamer, M., & Chida, Y. (2009). Physical activity and risk of neurodegenerative disease: a systematic review of prospective evidence. *Psychological Medicine*, *39*(1), 3–11.
<https://doi.org/10.1017/S0033291708003681>
- Hanyu, O., Yamatani, K., Ikarashi, T., Soda, S., Maruyama, S., Kamimura, T., ... Aizawa, Y. (2003). Brain-derived neurotrophic factor modulates glucagon secretion from pancreatic alpha cells: its contribution to glucose metabolism. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, *5*(1), 27–37.
- Hedayatpour, N., & Falla, D. (2015). Physiological and neural adaptations to eccentric exercise: mechanisms and considerations for training. *BioMed Research International*, *2015*.
- Hempstead, B. L. (2014). Deciphering proneurotrophin actions. *Handbook of Experimental Pharmacology*, *220*, 17–32. https://doi.org/10.1007/978-3-642-45106-5_2

- Hennigan, A., O'callaghan, R. M., & Kelly, A. M. (2007). Neurotrophins and their receptors: roles in plasticity, neurodegeneration and neuroprotection. *Biochemical Society Transactions*, 35(2), 424–427.
- Herrán, O. F., Patiño, G. A., & Del Castillo, S. E. (2016). Dietary transition and excess weight in adults according to the Encuesta de la Situación Nutricional en Colombia, 2010. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional De Salud*, 36(1), 109–120.
- Hohn, A., Leibrock, J., Bailey, K., & Barde, Y.-A. (1990). Identification and characterization of a novel member of the nerve growth factor/brain-derived neurotrophic factor family. *Nature*, 344(6264), 339–341.
- Hondermarck, H. (2012). Neurotrophins and their receptors in breast cancer. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 23(6), 357–365.
<https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2012.06.004>
- Hong, Y.-P., Lee, H.-C., & Kim, H.-T. (2015). Treadmill exercise after social isolation increases the levels of NGF, BDNF, and synapsin I to induce survival of neurons in the hippocampus, and improves depression-like behavior. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 19(1), 11–18. <https://doi.org/10.5717/jenb.2015.19.1.11>
- Hötting, K., & Röder, B. (2013). Beneficial effects of physical exercise on neuroplasticity and cognition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(9), 2243–2257.
- Hristova, M. G. (2013). Metabolic syndrome--from the neurotrophic hypothesis to a theory. *Medical Hypotheses*, 81(4), 627–634.
<https://doi.org/10.1016/j.mehy.2013.07.018>
- Huang, A. M., Jen, C. J., Chen, H. F., Yu, L., Kuo, Y. M., & Chen, H. I. (2006). Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived

- neurotrophic factor. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 113(7), 803–811. <https://doi.org/10.1007/s00702-005-0359-4>
- Huang, E. J., & Reichardt, L. F. (2003). Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annual Review of Biochemistry*, 72(1), 609–642.
- Huang, T., Larsen, K. T., Ried-Larsen, M., Møller, N. C., & Andersen, L. B. (2014a). The effects of physical activity and exercise on brain-derived neurotrophic factor in healthy humans: A review. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 24(1), 1–10.
- Huang, T., Larsen, K. T., Ried-Larsen, M., Møller, N. C., & Andersen, L. B. (2014b). The effects of physical activity and exercise on brain-derived neurotrophic factor in healthy humans: A review. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 24(1), 1–10.
- Huie, J. R., Garraway, S. M., Baumbauer, K. M., Hoy, J., Beas, B. S., Montgomery, K. S., ... Grau, J. W. (2012). Cognitive, Behavioral, and Systems Neuroscience: Brain-derived neurotrophic factor promotes adaptive plasticity within the spinal cord and mediates the beneficial effects of controllable stimulation. *Neuroscience*, 200, 74–90.
- Hwang, J., Brothers, R. M., Castelli, D. M., Glowacki, E. M., Chen, Y. T., Salinas, M. M., ... Calvert, H. (2016). Acute high-intensity exercise-induced cognitive enhancement and brain-derived neurotrophic factor in young, healthy adults. *Neuroscience Letters*, 630, 247–253.
- ICH Harmonised Tripartite. (2005). Validation of analytical procedures: text and methodology. Q2 (R1), 1.

- Ip, N. Y., Ibanez, C. F., Nye, S. H., McClain, J., Jones, P. F., Gies, D. R., ... Squinto, S. P. (1992). Mammalian neurotrophin-4: structure, chromosomal localization, tissue distribution, and receptor specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *89*(7), 3060–3064.
- Jansen, P., Giehl, K., Nyengaard, J. R., Teng, K., Liubinski, O., Sjoegaard, S. S., ... Nykjaer, A. (2007). Roles for the pro-neurotrophin receptor sortilin in neuronal development, aging and brain injury. *Nature Neuroscience*, *10*(11), 1449–1457. <https://doi.org/10.1038/nn2000>
- Johnson, N. B., Hayes, L. D., Brown, K., Hoo, E. C., Ethier, K. A., & (CDC), C. for D. C. and P. (2014). CDC National Health Report: leading causes of morbidity and mortality and associated behavioral risk and protective factors—United States, 2005–2013. *MMWR Surveill Summ*, *63*(Suppl 4), 3–27.
- Johnson, R. A., & Mitchell, G. S. (2003). Exercise-induced changes in hippocampal brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3: effects of rat strain. *Brain Research*, *983*(1), 108–114. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(03\)03039-7](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(03)03039-7)
- Josefsson, T., Lindwall, M., & Archer, T. (2014). Physical exercise intervention in depressive disorders: Meta-analysis and systematic review. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *24*(2), 259–272.
- Kaplan, D. R., & Miller, F. D. (2000). Neurotrophin signal transduction in the nervous system. *Current Opinion in Neurobiology*, *10*(3), 381–391.
- Kaur, S., Gonzales, M. M., Tarumi, T., Villalpando, A., Alkatan, M., Pyron, M., ... Haley, A. P. (2016). Serum Brain-Derived Neurotrophic Factor Mediates the Relationship between Abdominal Adiposity and Executive Function in Middle Age. *Journal of the International Neuropsychological Society: JINS*, *22*(5), 493–500. <https://doi.org/10.1017/S1355617716000230>

- Kennedy, A. E., Sheffield, K. S., Eibl, J. K., Murphy, M. B., Vohra, R., Scott, J. A., & Ross, G. M. (2016). A Surface Plasmon Resonance Spectroscopy Method for Characterizing Small-Molecule Binding to Nerve Growth Factor. *Journal of Biomolecular Screening*, 21(1), 96–100.
<https://doi.org/10.1177/1087057115607814>
- Kernie, S. G., Liebl, D. J., & Parada, L. F. (2000). BDNF regulates eating behavior and locomotor activity in mice. *The EMBO Journal*, 19(6), 1290–1300.
<https://doi.org/10.1093/emboj/19.6.1290>
- Keum, N., Lee, D. H., Kim, R., Greenwood, D. C., & Giovannucci, E. L. (2015). Visceral adiposity and colorectal adenomas: dose-response meta-analysis of observational studies. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 26(6), 1101–1109. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdu563>
- Keyvani, K., Sachser, N., Witte, O. W., & Paulus, W. (2004). Gene Expression Profiling in the Intact and Injured Brain Following Environmental Enrichment. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 63(6), 598–609.
<https://doi.org/10.1093/jnen/63.6.598>
- Knaepen, K., Goekint, M., Heyman, E. M., & Meeusen, R. (2010). Neuroplasticity — Exercise-Induced Response of Peripheral Brain-Derived Neurotrophic Factor. *Sports Medicine*, 40(9), 765–801. <https://doi.org/10.2165/11534530-000000000-00000>
- Kohl, H. W., Craig, C. L., & Lambert, E. V. (2012). The pandemic of physical inactivity: global action for public health. *Lancet*, 380. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60898-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60898-8)

- Komori, T., Morikawa, Y., Nanjo, K., & Senba, E. (2006). Induction of brain-derived neurotrophic factor by leptin in the ventromedial hypothalamus. *Neuroscience*, 139(3), 1107–1115. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.12.066>
- Krabbe, K. S., Mortensen, E. L., Avlund, K., Pedersen, A. N., Pedersen, B. K., Jørgensen, T., & Bruunsgaard, H. (2009). Brain-Derived Neurotrophic Factor Predicts Mortality Risk in Older Women. *Journal of the American Geriatrics Society*, 57(8), 1447–1452. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2009.02345.x>
- Kubo, M. (2015). Search of Neurotrophin-mimic Natural Products for Prevention and Treatment of Neurodegenerative Disease. *YAKUGAKU ZASSHI-JOURNAL OF THE PHARMACEUTICAL SOCIETY OF JAPAN*, 135(10), 1147–1152.
- Lapchak, P. A., & Hefti, F. (1992). BDNF and NGF treatment in lesioned rats: effects on cholinergic function and weight gain. *Neuroreport*, 3(5), 405–408.
- Le Moan, N., Houslay, D. M., Christian, F., Houslay, M. D., & Akassoglou, K. (2011). Oxygen-dependent cleavage of the p75 neurotrophin receptor triggers stabilization of HIF-1 α . *Molecular Cell*, 44(3), 476–490. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.08.033>
- Lee, R., Kermani, P., Teng, K. K., & Hempstead, B. L. (2001). Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science*, 294(5548), 1945–1948.
- Leßmann, V., & Brigadski, T. (2009). Mechanisms, locations, and kinetics of synaptic BDNF secretion: an update. *Neuroscience Research*, 65(1), 11–22.
- Lessmann, V., Gottmann, K., & Malsangio, M. (2003). Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology*, 69(5), 341–374.
- Lessmann, V., Gottmann, K., & Malsangio, M. (2003). Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology*, 69(5), 341–374.

- Lessmann, V., Gottmann, K., & Malsangio, M. (2003). Neurotrophin secretion: current facts and future prospects. *Progress in Neurobiology*, 69(5), 341–374.
- Levi-Montalcini, R., & Hamburger, V. (1953). A diffusible agent of mouse sarcoma, producing hyperplasia of sympathetic ganglia and hyperneurotization of viscera in the chick embryo. *Journal of Experimental Zoology*, 123(2), 233–287.
- Lewin, G. R., & Barde, Y.-A. (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annual Review of Neuroscience*, 19(1), 289–317.
- Lewin, G. R., & Carter, B. D. (2014). *Neurotrophic Factors*. [electronic resource]. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg : Imprint: Springer, 2014. Retrieved from <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=cat02704a&AN=unc.000850421&lang=es&site=eds-live>
- Lewin, G. R., Lechner, S. G., & Smith, E. S. J. (2014). Nerve growth factor and nociception: from experimental embryology to new analgesic therapy. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 220, 251–282. https://doi.org/10.1007/978-3-642-45106-5_10
- Li, G., & He, H. (2009). Hormesis, allostatic buffering capacity and physiological mechanism of physical activity: a new theoretic framework. *Medical Hypotheses*, 72(5), 527–532.
- Liedberg, B., Nylander, C., & Lunström, I. (1983). Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing. *Sensors and Actuators*, 4, 299–304. [https://doi.org/10.1016/0250-6874\(83\)85036-7](https://doi.org/10.1016/0250-6874(83)85036-7)
- Lim, K.-C., Lim, S. T., & Federoff, H. J. (2003). Neurotrophin secretory pathways and synaptic plasticity. *Neurobiology of Aging*, 24(8), 1135–1145.

- Liu, W., Han, X., Zhou, X., Zhang, S., Cai, X., Zhang, L., ... Ji, L. (2016). Brain derived neurotrophic factor in newly diagnosed diabetes and prediabetes. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 429, 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.04.002>
- Liu, X., Obianyo, O., Chan, C. B., Huang, J., Xue, S., Yang, J. J., ... Ye, K. (2014). Biochemical and Biophysical Investigation of the Brain-derived Neurotrophic Factor Mimetic 7,8-Dihydroxyflavone in the Binding and Activation of the TrkB Receptor. *The Journal of Biological Chemistry*, 289(40), 27571–27584. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.562561>
- LLorens-Martin, M., Torres-Aleman, I., & Trejo, J. L. (2009). Reviews: mechanisms mediating brain plasticity: IGF1 and adult hippocampal neurogenesis. *The Neuroscientist*, 15(2), 134–148.
- Lommatzsch, M., Zingler, D., Schuhbaeck, K., Schloetcke, K., Zingler, C., Schuff-Werner, P., & Virchow, J. C. (2005). The impact of age, weight and gender on BDNF levels in human platelets and plasma. *Neurobiology of Aging*, 26(1), 115–123.
- Longo, F. M., & Massa, S. M. (2013). Small-molecule modulation of neurotrophin receptors: a strategy for the treatment of neurological disease. *NATURE REVIEWS DRUG DISCOVERY*, 12(7), 507–525. <https://doi.org/10.1038/nrd4024>
- Luna-Luna, M., Medina-Urrutia, A., Vargas-Alarcón, G., Coss-Rovirosa, F., Vargas-Barrón, J., & Pérez-Méndez, Ó. (2015). Adipose Tissue in Metabolic Syndrome: Onset and Progression of Atherosclerosis. *Archives of Medical Research*, 46(5), 392–407. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2015.05.007>
- Marquart. (2017). SPR Pages. <http://www.sprpages.nl/>. 2014.
- Marquart, A. (2008). *Surface Plasmon Resonance and Biomolecular Interaction Analysis: Theory and Practice*.

- Martin, M., Krystof, S., Jiri, R., Martina, D., Renata, V., Ondrej, M., ... Vladimir, T. (2016). Modulation of Energy Intake and Expenditure Due to Habitual Physical Exercise. *Current Pharmaceutical Design*, 22(24), 3681–3699.
- Mason, B. L., Lobo, M. K., Parada, L. F., & Lutter, M. (2013). Trk B signaling in dopamine 1 receptor neurons regulates food intake and body weight. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 21(11), 2372–2376. <https://doi.org/10.1002/oby.20382>
- Matthews, V. B., Åström, M.-B., Chan, M. H. S., Bruce, C. R., Krabbe, K. S., Prelovsek, O., ... Febbraio, M. A. (2009). Brain-derived neurotrophic factor is produced by skeletal muscle cells in response to contraction and enhances fat oxidation via activation of AMP-activated protein kinase. *Diabetologia*, 52(7), 1409–1418. <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1364-1>
- McFadden, K. L., Cornier, M.-A., Melanson, E. L., Bechtell, J. L., & Tregellas, J. R. (2013). Effects of exercise on resting-state default mode and salience network activity in overweight/obese adults. *Neuroreport*, 24(15), 866–871. <https://doi.org/10.1097/WNR.0000000000000013>
- Mendell, L. M. (1999). Neurotrophin action on sensory neurons in adults: an extension of the neurotrophic hypothesis. *Pain*, 82(Supplement 1), S127–S132.
- Mercader, J. M., Saus, E., Aguera, Z., Bayes, M., Claudette, B., Carreras, A., ... Forcano, L. (2008). Association of NTRK3 and its interaction with NGF suggest an altered cross-regulation of the neurotrophin signaling pathway in eating disorders. *EUROPEAN PSYCHIATRY*, 23, S182.
- Moreno González, M. I. (2010). Circunferencia de cintura: una medición importante y útil del riesgo cardiometabólico. *Revista Chilena de Cardiología*, 29(1), 85–87.
- Mueller, K., Möller, H. E., Horstmann, A., Busse, F., Lepsien, J., Blüher, M., ... Pleger, B. (2015). Physical exercise in overweight to obese individuals induces metabolic-

- and neurotrophic-related structural brain plasticity. *Frontiers in Human Neuroscience*, 9.
- Naito, Y., Lee, A. K., & Takahashi, H. (2017). Emerging roles of the neurotrophin receptor TrkC in synapse organization. *Neuroscience Research*, 116, 10–17.
<https://doi.org/10.1016/j.neures.2016.09.009>
- Nakagawa, T., Ono-Kishino, M., Sogaru, E., Yamanaka, M., Taiji, M., & Noguchi, H. (2002). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) regulates glucose and energy metabolism in diabetic mice. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 18(3), 185–191. <https://doi.org/10.1002/dmrr.290>
- Neto, F. L., Borges, G., Torres-Sanchez, S., Mico, J. A., & Berrocoso, E. (2011). Neurotrophins role in depression neurobiology: a review of basic and clinical evidence. *Current Neuropharmacology*, 9(4), 530–552.
<https://doi.org/10.2174/157015911798376262>
- Nilsson, A.-S., Fainzilber, M., Falck, P., & Ibáñez, C. F. (1998). Neurotrophin-7: a novel member of the neurotrophin family from the zebrafish. *FEBS Letters*, 424(3), 285–290. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(98\)00192-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(98)00192-6)
- Nimwegen, M., Speelman, A. D., Hofman-van Rossum, E. J. M., Overeem, S., Deeg, D. J. H., Borm, G. F., ... Munneke, M. (2011). Physical inactivity in Parkinson's disease. *Journal of Neurology*, (12), 2214.
- Nonomura, T., Tsuchida, A., Ono-Kishino, M., Nakagawa, T., Taiji, M., & Noguchia, H. (2001). Brain-derived Neurotrophic Factor Regulates Energy Expenditure Through the Central Nervous System in Obese Diabetic Mice. *International Journal of Experimental Diabetes Research*, 2(3), 201–209.
<https://doi.org/10.1155/EDR.2001.201>

- Nordvall, G., & Forsell, P. (2014). Stimulating Neurotrophin Receptors in the Treatment of Neurodegenerative Disorders. *ANNUAL REPORTS IN MEDICINAL CHEMISTRY, VOL 49, 49, 59–73*.
- OMS. (2006). *Neurological disorders: public health challenges*. World Health Organization.
- OMS. (2015). Las 10 causas principales de defunción en el mundo. Retrieved September 20, 2016, from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/index2.html>
- Pacheco-Herrera, J. D., Ramírez-Vélez, R., & Correa-Bautista, J. E. (2016). Índice general de fuerza y adiposidad como medida de la condición física relacionada con la salud en niños y adolescentes de Bogotá, Colombia: Estudio FUPRECOL. *General Strength Index and Adiposity as a Measure of Health-Related Physical Fitness among Children and Adolescents from Bogotá, Colombia: The FUPRECOL Study.*, *33*(3), 556–564.
- Park, H., & Poo, M. (2013). Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nature Reviews. Neuroscience*, *14*(1), 7.
- Pattnaik, P. (2005). Surface plasmon resonance. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, *126*(2), 79–92.
- Pedersen, B. K., Pedersen, M., Krabbe, K. S., Bruunsgaard, H., Matthews, V. B., & Febbraio, M. A. (2009). Role of exercise-induced brain-derived neurotrophic factor production in the regulation of energy homeostasis in mammals. *Experimental Physiology*, *94*(12), 1153–1160. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2009.048561>
- Pelleymounter, M. A., Cullen, M. J., & Wellman, C. L. (1995). Characteristics of BDNF-induced weight loss. *Experimental Neurology*, *131*(2), 229–238.

- Piepmeyer, A. T., & Etnier, J. L. (2015). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) as a potential mechanism of the effects of acute exercise on cognitive performance. *Journal of Sport and Health Science*, 4(1), 14–23.
- Piliarik, M., Vaisocherová, H., & Homola, J. (2009). Surface plasmon resonance biosensing. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 503, 65–88.
https://doi.org/10.1007/978-1-60327-567-5_5
- Prince, M. J. (2015). *World Alzheimer Report 2015: The Global Impact of Dementia: an Analysis of Prevalence, Incidence, Cost and Trends*.
- Pringsheim, T., Jette, N., Frolkis, A., & Steeves, T. D. L. (2014). The prevalence of Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis. *Movement Disorders*, 29(13), 1583–1590. <https://doi.org/10.1002/mds.25945>
- Ramekers, D. (1, 2), Versnel, H. (1, 2), Klis, S. f. I. (1, 2), Grolman, W. (1, 2), & Strahl, S. b. (3). (2015). Temporary neurotrophin treatment prevents deafness-induced auditory nerve degeneration and preserves function. *Journal of Neuroscience*, 35(36), 12331–12345. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0096-15.2015>
- Ramírez-Vélez, R. (2011). Postprandial lipemia induces endothelial dysfunction and higher insulin resistance in healthy subjects. *Endocrinol Nutr.*, 58.
<https://doi.org/10.1016/j.endonu.2011.07.009>
- Ramírez-Vélez, R., Aguilar, A. C., & Mosquera, M. (2009). Clinical trial to assess the effect of physical exercise on endothelial function and insulin resistance in pregnant women. *Trials.*, 10. <https://doi.org/10.1186/1745-6215-10-104>
- Ramírez-Vélez, R., Aguilar de Plata, A. C., & Escudero, M. M. (2011). Influence of regular aerobic exercise on endothelium-dependent vasodilation and cardiorespiratory

fitness in pregnant women. *J Obstet Gynaecol Res*, 37.

<https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2011.01582.x>

Ramírez-Velez, R., Aguilar de Plata, A. C., & Hernán Ramírez, J. (2010). Physiological changes in endothelial function following vigorous exercise. *Rev Clin Esp*, 210.

<https://doi.org/10.1016/j.rce.2009.12.013>

Ramírez-Vélez, R., Hernandez, A., Castro, K., Tordecilla-Sanders, A., González-Ruíz, K., Correa-Bautista, J. E., ... García-Hermoso, A. (2016a). High Intensity Interval- vs

Resistance or Combined- Training for Improving Cardiometabolic Health in

Overweight Adults (Cardiometabolic HIIT-RT Study): study protocol for a

randomised controlled trial. *Trials*, 17(1), 1–13. [https://doi.org/10.1186/s13063-](https://doi.org/10.1186/s13063-016-1422-1)

[016-1422-1](https://doi.org/10.1186/s13063-016-1422-1)

Ramírez-Vélez, R., Hernandez, A., Castro, K., Tordecilla-Sanders, A., González-Ruíz, K., Correa-Bautista, J. E., ... García-Hermoso, A. (2016b). High Intensity Interval- vs

Resistance or Combined- Training for Improving Cardiometabolic Health in

Overweight Adults (Cardiometabolic HIIT-RT Study): study protocol for a

randomised controlled trial. *Trials*, 17(1), 1–13. [https://doi.org/10.1186/s13063-](https://doi.org/10.1186/s13063-016-1422-1)

[016-1422-1](https://doi.org/10.1186/s13063-016-1422-1)

Ramírez-Velez, R., Morales, O., Pena-Ibagon, J. C., Palacios-Lopez, A., Prieto-

Benavides, D. H., Vivas, A., ... Izquierdo, M. (2017). Normative reference values

for handgrip strength in Colombian schoolchildren: the FUPRECOL study. *Journal*

of Strength and Conditioning Research, (1), 217.

Ramírez-Vélez, R., Tordecilla-Sanders, A., Laverde, D., Hernández-Novoa, J. G., Ríos,

M., Rubio, F., ... Martínez-Torres, J. (2014). The prevalence of barriers for

Colombian college students engaging in physical activity. *Nutricion Hospitalaria*,

31(2), 858–865. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.2.7737>

- Rios, M. (2014). Neurotrophins and the Regulation of Energy Balance and Body Weight. In *Neurotrophic Factors* (pp. 283–307). Springer, Berlin, Heidelberg. Retrieved from https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-45106-5_11
- Rios, M., Fan, G., Fekete, C., Kelly, J., Bates, B., Kuehn, R., ... Jaenisch, R. (2001). Conditional deletion of brain-derived neurotrophic factor in the postnatal brain leads to obesity and hyperactivity. *Molecular Endocrinology (Baltimore, Md.)*, 15(10), 1748–1757. <https://doi.org/10.1210/mend.15.10.0706>
- Roig, M., Nordbrandt, S., Geertsen, S. S., & Nielsen, J. B. (2013). The effects of cardiovascular exercise on human memory: a review with meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 37(8), 1645–1666.
- Roux, P. P., Bhakar, A. L., Kennedy, T. E., & Barker, P. A. (2001). The p75 neurotrophin receptor activates Akt (protein kinase B) through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent pathway. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(25), 23097–23104. <https://doi.org/10.1074/jbc.M011520200>
- Sachs, B. D., Baillie, G. S., McCall, J. R., Passino, M. A., Schachtrup, C., Wallace, D. A., ... Akassoglou, K. (2007). p75 neurotrophin receptor regulates tissue fibrosis through inhibition of plasminogen activation via a PDE4/cAMP/PKA pathway. *The Journal of Cell Biology*, 177(6), 1119–1132. <https://doi.org/10.1083/jcb.200701040>
- Sanchez Molina, M. Y. (2016a). *Evaluación in vitro de factores estimuladores e inhibidores de neuroregeneración presentes en cultivos celulares de la glía envolvente olfatoria*. Retrieved from <http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ir00238a&AN=unal.51936&lang=es&site=eds-live>
- Sanchez Molina, M. Y. (2016b). *Evaluación in vitro de factores estimuladores e inhibidores de neuroregeneración presentes en cultivos celulares de la glía*

envolvente olfatoria. Retrieved from

<http://ezproxy.unal.edu.co/login?url=http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=ir00238a&AN=unal.51936&lang=es&site=eds-live>

Saucedo Marquez, C. M., Vanaudenaerde, B., Troosters, T., & Wenderoth, N. (2015).

High-intensity interval training evokes larger serum BDNF levels compared with intense continuous exercise. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, 119(12), 1363–1373. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00126.2015>

Schasfoort, R. B., & Tudos, A. J. (2008). *Handbook of surface plasmon resonance*. Royal Society of Chemistry.

Schulkin, J. (2016). Evolutionary Basis of Human Running and Its Impact on Neural Function. *Frontiers in Systems Neuroscience*, 10.

Schwartz, G. J. (2000). The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 16(10), 866–873.

Scola, G., & Andrezza, A. C. (2015). The role of neurotrophins in bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 56, 122–128.

Seidah, N. G., Benjannet, S., Pareek, S., Chrétien, M., & Murphy, R. A. (1996). Cellular processing of the neurotrophin precursors of NT3 and BDNF by the mammalian proprotein convertases. *FEBS Letters*, 379(3), 247–250.

Seifert, T., Brassard, P., Wissenberg, M., Rasmussen, P., Nordby, P., Stallknecht, B., ...

Secher, N. H. (2010). Endurance training enhances BDNF release from the human brain. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 298(2), R372-377.

<https://doi.org/10.1152/ajpregu.00525.2009>

- Sheffield, K. S. A., Kennedy, A. E., Scott, J. A., & Ross, G. M. (2016). Characterizing nerve growth factor-p75(NTR) interactions and small molecule inhibition using surface plasmon resonance spectroscopy. *Analytical Biochemistry*, *493*, 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2015.09.019>
- Sheffield, K. S. A., Vohra, R., Scott, J. A., & Ross, G. M. (2016). Using surface plasmon resonance spectroscopy to characterize the inhibition of NGF-p75(NTR) and proNGF-p75(NTR) interactions by small molecule inhibitors. *Pharmacological Research*, *103*, 292–299. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2015.12.005>
- Siegel, G. J., & Chauhan, N. B. (2000). Neurotrophic factors in Alzheimer's and Parkinson's disease brain. *Brain Research Reviews*, *33*(2), 199–227.
- Sjostram, M., Ainsworth, B., Bauman, A., Bull, F., Craig, C., & Sallis, J. (2009). Guidelines for data processing and analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)—short and long forms: Nov 2005. *Available at Wwwwipaqkise/scoring Accessed*, *5*(11).
- Skaper, S. D. (2012). The neurotrophin family of neurotrophic factors: an overview. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, *846*, 1–12. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-536-7_1
- Skledar, M., Nikolac, M., Dodig-Curkovic, K., Curkovic, M., Borovecki, F., & Pivac, N. (2012). Association between brain-derived neurotrophic factor Val66Met and obesity in children and adolescents. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, *36*, 136–140.
- Song, W., Volosin, M., Cragolini, A. B., Hempstead, B. L., & Friedman, W. J. (2010). ProNGF induces PTEN via p75NTR to suppress Trk-mediated survival signaling in brain neurons. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for*

- Neuroscience*, 30(46), 15608–15615. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2581-10.2010>
- Speliotes, E. K., Willer, C. J., Berndt, S. I., Monda, K. L., Thorleifsson, G., Jackson, A. U., ... Loos, R. J. F. (2010). Association analyses of 249,796 individuals reveal eighteen new loci associated with body mass index. *Nature Genetics*, 42(11), 937–948. <https://doi.org/10.1038/ng.686>
- Spielman, L. J., Little, J. P., & Klegeris, A. (2014). Inflammation and insulin/IGF-1 resistance as the possible link between obesity and neurodegeneration. *Journal of Neuroimmunology*, 273(1–2), 8–21. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2014.06.004>
- SurveyMonkey: Herramienta gratuita de software y cuestionarios para crear encuestas online. (1999). Retrieved July 21, 2017, from <https://es.surveymonkey.com/aw/product/>
- Sustar, A., Nikolac Perkovic, M., Nedic Erjavec, G., Svob Strac, D., & Pivac, N. (2016). A protective effect of the BDNF Met/Met genotype in obesity in healthy Caucasian subjects but not in patients with coronary heart disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(16), 3417–3426.
- Szuhany, K. L., Bugatti, M., & Otto, M. W. (2015). A meta-analytic review of the effects of exercise on brain-derived neurotrophic factor. *Journal of Psychiatric Research*, 60, 56–64.
- Tep, C., Lim, T. H., Ko, P. O., Getahun, S., Ryu, J. C., Goettl, V. M., ... Yoon, S. O. (2013). Oral administration of a small molecule targeted to block proNGF binding to p75 promotes myelin sparing and functional recovery after spinal cord injury. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(2), 397–410. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0399-12.2013>

- Theoharides, T. C., Athanassiou, M., Panagiotidou, S., & Doyle, R. (2015). Dysregulated brain immunity and neurotrophin signaling in Rett syndrome and autism spectrum disorders. *Journal of Neuroimmunology*, *279*, 33–38.
- Thillaivinayagalingam, P., Gommeaux, J., McLoughlin, M., Collins, D., & Newcombe, A. R. (2010). Biopharmaceutical production: Applications of surface plasmon resonance biosensors. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *878*(2), 149–153.
<https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.08.040>
- Thomas, S. M., DeMarco, M., D'Arcangelo, G., Halegoua, S., & Brugge, J. S. (1992). Ras is essential for nerve growth factor-and phorbol ester-induced tyrosine phosphorylation of MAP kinases. *Cell*, *68*(6), 1031–1040.
- Tonoli, C., Heyman, E., Roelands, B., Buyse, L., Piacentini, F., Berthoin, S., ... Meeusen, R. (2015). BDNF, IGF-I, Glucose and Insulin during Continuous and Interval Exercise in Type 1 Diabetes. *International Journal of Sports Medicine*, *36*(12), 955–959. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1548886>
- Tonra, J. R., Ono, M., Liu, X., Garcia, K., Jackson, C., Yancopoulos, G. D., ... Wong, V. (1999). Brain-derived neurotrophic factor improves blood glucose control and alleviates fasting hyperglycemia in C57BLKS-Lepr(db)/lepr(db) mice. *Diabetes*, *48*(3), 588–594.
- Trajkovska, V., Marcussen, A. B., Vinberg, M., Hartvig, P., Aznar, S., & Knudsen, G. M. (2007). Measurements of brain-derived neurotrophic factor: methodological aspects and demographical data. *Brain Research Bulletin*, *73*(1), 143–149.
- Tsao, D., Thomsen, H. K., Chou, J., Stratton, J., Hagen, M., Loo, C., ... Lin, J. C. (2008). TrkB agonists ameliorate obesity and associated metabolic conditions in mice. *Endocrinology*, *149*(3), 1038–1048. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1166>

- Tsuchida, A., Nonomura, T., Nakagawa, T., Itakura, Y., Ono-Kishino, M., Yamanaka, M., ... Noguchi, H. (2002). Brain-derived neurotrophic factor ameliorates lipid metabolism in diabetic mice. *Diabetes, Obesity & Metabolism*, *4*(4), 262–269.
- Unger, T. J., Calderon, G. A., Bradley, L. C., Sena-Esteves, M., & Rios, M. (2007). Selective deletion of Bdnf in the ventromedial and dorsomedial hypothalamus of adult mice results in hyperphagic behavior and obesity. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *27*(52), 14265–14274. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3308-07.2007>
- Urduingio, R. G., Sanchez-Mut, J. V., & Esteller, M. (2009). Review: Epigenetic mechanisms in neurological diseases: genes, syndromes, and therapies. *Lancet Neurology*, *8*, 1056–1072.
- US Department of Health and Human Services. (2017). Physical Activity Guidelines Advisory Committee Report. Washington. Retrieved from <http://www.health.gov/paguidelines/>
- Vachali, P. P., Li, B., Bartschi, A., & Bernstein, P. S. (2015). Surface plasmon resonance (SPR)-based biosensor technology for the quantitative characterization of protein–carotenoid interactions. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *572*, 66–72. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2014.12.005>
- van Praag, H., Fleshner, M., Schwartz, M. W., & Mattson, M. P. (2014). Exercise, energy intake, glucose homeostasis, and the brain. *Journal of Neuroscience*, *34*(46), 15139–15149.
- Vandarakis, D., Salacinski, A. J., & Broeder, C. E. (2013). A comparison of COSMED metabolic systems for the determination of resting metabolic rate. *Research in Sports Medicine (Print)*, *21*(2), 187–194. <https://doi.org/10.1080/15438627.2012.757226>

- Verhovshek, T., Rudolph, L. M., & Sengelaub, D. R. (2013). Brain-derived neurotrophic factor and androgen interactions in spinal neuromuscular systems. *Neuroscience*, 239, 103–114.
- Vetter, M. L., Martin-Zanca, D., Parada, L. F., Bishop, J. M., & Kaplan, D. R. (1991). Nerve growth factor rapidly stimulates tyrosine phosphorylation of phospholipase C-gamma 1 by a kinase activity associated with the product of the trk protooncogene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(13), 5650–5654.
- Vikdahl, M., Carlsson, M., Linder, J., Forsgren, L., & Håglin, L. (2014). Original article: Weight gain and increased central obesity in the early phase of Parkinson's disease. *Clinical Nutrition*, 33, 1132–1139.
- Volonté, C., Angelastro, J. M., & Greene, L. A. (1993). Association of protein kinases ERK1 and ERK2 with p75 nerve growth factor receptors. *The Journal of Biological Chemistry*, 268(28), 21410–21415.
- Voss, M. W., Erickson, K. I., Prakash, R. S., Chaddock, L., Malkowski, E., Alves, H., ... Kramer, A. F. (2010). Functional connectivity: a source of variance in the association between cardiorespiratory fitness and cognition? *Neuropsychologia*, 48(5), 1394–1406. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2010.01.005>
- Wagner, G., Herbsleb, M., de la Cruz, F., Schumann, A., Brünner, F., Schachtzabel, C., ... Bär, K.-J. (2015). Hippocampal structure, metabolism, and inflammatory response after a 6-week intense aerobic exercise in healthy young adults: a controlled trial. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 35(10), 1570–1578. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2015.125>

- Warburton, D. E. R., & Bredin, S. S. D. (2016). Reflections on Physical Activity and Health: What Should We Recommend? *The Canadian Journal of Cardiology*, 32(4), 495–504. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.01.024>
- Waterhouse, E. G., & Xu, B. (2009). Review: New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 42, 81–89.
- Watson, R. R., & Killgore, W. D. S. (2017). *Nutrition and Lifestyle in Neurological Autoimmune Diseases : Multiple Sclerosis*. London: Academic Press.
- Weissmiller, A. M., & Wu, C. (2012). Current advances in using neurotrophic factors to treat neurodegenerative disorders. *Translational Neurodegeneration*, 1(1), 1.
- WHO | Diet and physical activity: a public health priority. (2017). Retrieved May 6, 2017, from <http://www.who.int/dietphysicalactivity/en/>
- Wu, Y. J., Krüttgen, A., Möller, J. C., Shine, D., Chan, J. R., Shooter, E. M., & Cosgaya, J. M. (2004). Nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor, and neurotrophin-3 are sorted to dense-core vesicles and released via the regulated pathway in primary rat cortical neurons. *Journal of Neuroscience Research*, 75(6), 825–834.
- Xu, B., Goulding, E. H., Zang, K., Cepoi, D., Cone, R. D., Jones, K. R., ... Reichardt, L. F. (2003). Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nature Neuroscience*, 6(7), 736–742. <https://doi.org/10.1038/nn1073>
- Yang, S.-Y., Shan, C.-L., Qing, H., Wang, W., Zhu, Y., Yin, M.-M., ... Wu, T. (2015). The Effects of Aerobic Exercise on Cognitive Function of Alzheimer's Disease Patients. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, 14(10), 1292–1297.

- Yarrow, J. F., White, L. J., McCoy, S. C., & Borst, S. E. (2010). Training augments resistance exercise induced elevation of circulating brain derived neurotrophic factor (BDNF). *Neuroscience Letters*, *479*(2), 161–165.
<https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.05.058>
- Yeo, G. S. H., Connie Hung, C.-C., Rochford, J., Keogh, J., Gray, J., Sivaramakrishnan, S., ... Farooqi, I. S. (2004). A de novo mutation affecting human TrkB associated with severe obesity and developmental delay. *Nature Neuroscience*, *7*(11), 1187–1189. <https://doi.org/10.1038/nn1336>
- Yeong Geun Kim, & Hyun Jun Kim. (2013). ORIGINAL PAPER : Exercise-induced increase of BDNF decreased TG and glucose in obese adolescents. *JENB (Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry)*, *17*(3), 87.
- Ying, Z., Roy, R. R., Edgerton, V. R., & Gómez-Pinilla, F. (2003). Research report: Voluntary exercise increases neurotrophin-3 and its receptor TrkC in the spinal cord. *Brain Research*, *987*, 93–99.
- Yu, F., Bronas, U. G., Konety, S., Nelson, N. W., Dysken, M., Jack, C., ... Smith, G. (2014). Effects of aerobic exercise on cognition and hippocampal volume in Alzheimer's disease: study protocol of a randomized controlled trial (The FIT-AD trial). *Trials*, *15*, 394. <https://doi.org/10.1186/1745-6215-15-394>
- Zegers, D., Hendrickx, R., Verrijken, A., Van Hoorenbeeck, K., Van Camp, J. K., de Craemer, V., ... Beckers, S. (2014). Screening for genetic variants in BDNF that contribute to childhood obesity. *Pediatric Obesity*, *9*(1), 36–42.
<https://doi.org/10.1111/j.2047-6310.2012.00131.x>
- Zhang, S.-H., Zhou, X.-F., Deng, Y.-S., & Rush, R. A. (1999). Measurement of neurotrophin 4/5 in rat tissues by a sensitive immunoassay. *Journal of*

Neuroscience Methods, 89(1), 69–74. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(99\)00038-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(99)00038-2)

Zhang, S.-H., Zhou, X.-F., & Rush, R. A. (2001). Extraction and quantification of the neurotrophins. *Neurotrophin Protocols*, 31–41.

Ziegenhorn, A. A., Schulte-Herbrüggen, O., Danker-Hopfe, H., Malbranc, M., Hartung, H.-D., Anders, D., ... Hellweg, R. (2007). Serum neurotrophins--a study on the time course and influencing factors in a large old age sample. *Neurobiology of Aging*, 28(9), 1436–1445. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2006.06.011>