

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y
NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”**

Respuesta del factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF21) a un
programa de ejercicio cardiorespiratorio agudo y crónico

T E S I S D E P O S G R A D O

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO EN

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

DR. DANIEL CUEVAS RAMOS

COMITÉ TUTORAL
DR. CARLOS A. AGUILAR SALINAS
DR. ARMANDO TOVAR PALACIO
DR. OSCAR PÉREZ MÉNDEZ

MEXICO, D.F., FEBRERO DE 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Respuesta del factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF21)
a un programa de ejercicio cardiorespiratorio agudo y crónico**

Autores:

Daniel Cuevas Ramos, Paloma Almeda Valdés, Francisco J Gómez Pérez, Clara E. Meza-Arana, Jorge Oseguera Moguel, Carlos A Aguilar Salinas.

Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Departamento de Cardiología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Departamento de Medicina Interna, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Resumen

Objetivo: El factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF21) es liberado por el hígado después del efecto agonista de ácidos grasos libres en el receptor activador de la proliferación de peroxisomas alfa (PPAR-alfa). El objetivo del estudio es evaluar si la inducción de lipólisis con el ejercicio produce incremento del nivel sérico de FGF21.

Diseño: estudio comparativo, longitudinal, de intervención, antes-después. Se realizó evaluación antropométrica (IMC, circunferencia de cintura, porcentaje de grasa, entre otros) y bioquímica (glucosa, insulina, ácidos grasos libres, FGF21, epinefrina, leptina y adiponectina, entre otros) antes y después de una sesión aguda de ejercicio y se repitió después de dos semanas de ejercicio diario supervisado siguiendo el protocolo de Bruce sobre banda sin fin. La muestra en estudio estuvo conformada por 60 mujeres sedentarias.

Resultados: La edad promedio fue de 24 ± 3.7 años, con un promedio de IMC de 21.4 ± 7.0 kg/m². Las características antropométricas no cambiaron después de dos semanas de ejercicio. El nivel de FGF21 incrementó significativamente del nivel basal [276.8 ng/l (142.8-568.6)] en comparación con el final (460.8 (298.2-742.1), $p < 0.0001$). También se identificó una reducción significativa en leptina (13.1 ng/ml (8.2-21.1) vs 12.4 (10.0-16.2), $p = 0.001$). Los sujetos con el segundo y tercer tercil del log de la delta (final-basal) del nivel sérico de FGF21, presentaron un nivel más alto del promedio de la frecuencia cardiaca en reposo (RHR, $p = 0.02$), frecuencia cardiaca máxima (MHR, $p < 0.0001$), equivalentes metabólicos (METs, $p = 0.008$), delta de ácidos grasos libres (AGL, $p = 0.01$), delta de epinefrina ($p = 0.008$) y las presiones sistólica ($p = 0.05$) y diastólica ($p = 0.01$) máxima, en comparación con el primer tercil. Además, la delta del log de la concentración sérica de FGF21, ajustado para BMI, correlacionó significativamente con el nivel basal de glucosa ($r = 0.23$, $p = 0.04$), RHR promedio ($r = 0.43$, $p = 0.001$), MHR promedio ($r = 0.54$, $p < 0.0001$), METs ($r = 0.040$, $p = 0.002$), delta epinefrina ($r = 0.53$, $p < 0.01$), y con la delta de AGL ($r = 0.35$, $p = 0.006$). El modelo de regresión lineal a pasos confirmó que la glucosa, RHR, MHR, METs, AGL y epinefrina fueron factores independientemente asociados con el incremento de FGF21 después del programa de ejercicio ($F = 4.32$; $r^2 = 0.64$, $p < 0.0001$).

Conclusiones: FGF21 incrementó significativamente después de dos semanas de actividad física en mujeres sedentarias. Este incremento correlaciono positivamente con parámetros clínicos relacionados con descarga adrenérgica y respuesta lipolítica.

Abreviaturas: AGL, ácidos grasos libres; Epi, epinefrina; FGF21, factor de crecimiento fibroblástico 21; IMC, índice de masa corporal; MET, equivalente metabólico; MHR, frecuencia cardiaca máxima; RHR, frecuencia cardiaca en reposo; TAS, presión arterial sistólica; TAD, presión arterial diastólica; WC; circunferencia de cintura.

Introducción

El factor de crecimiento fibroblástico 21 (FGF21) es un miembro reciente de la familia de FGFs. Se expresa principalmente en hígado (1) y tejido adiposo (4). Su principal acción es incrementar la captación de glucosa en adipocitos (2). Cuando se sobreexpresa en ratones transgénicos, protege a los animales de obesidad inducida con dieta y su administración a roedores (2) y monos diabéticos (3) disminuye los niveles de glucosa y triglicéridos en sangre. Además, se ha demostrado incremento significativo en adiponectina total y reducción de leptina (3). Otros estudios *in vitro* e *in vivo* han mostrado que FGF21 es un importante modulador del metabolismo de insulina y glucosa. La administración subcutánea en ratones diabéticos produce reducción significativa de la insulina de ayuno (de 25 a 35%) y de los niveles de glucosa postprandial (2).

Badman *et al.* (4) e Inagaki *et al.* (5) demostraron que la expresión de FGF-21 en el hígado de ratones en ayuno es activada por el receptor nuclear PPAR-alfa. El ligando endógeno de señalización de PPAR-alfa son los ácidos grasos (6) y la mayor expresión de PPAR-alfa en el hígado induce expresión de enzimas que incrementan la oxidación de ácidos grasos para la formación de acetil-coenzima A (acetil-CoA). Uno de los productos finales de la acetil-CoA puede consistir en la formación de cuerpos cetónicos. Desde el hígado, los cuerpos cetónicos son utilizados en otros tejidos como fuente de energía, particularmente en el cerebro. Como demuestran Badman *et al.* (4) e Inagaki *et al.* (5), el FGF-21 promueve la oxidación de ácidos grasos y dirige el proceso metabólico hacia la formación de cuerpos cetónicos. Ambos grupos de investigadores demostraron que la dramática inducción de la transcripción de FGF-21 en el hígado de ratones en ayuno, está ausente en ratones con delección del gen que codifica a PPAR-alfa. Estas observaciones, concluyen los autores, unen a FGF-21 y PPAR-alfa en una misma vía de señalización. Los principales efectos de FGF21 descritos hasta el momento se resumen en la siguiente figura (7):

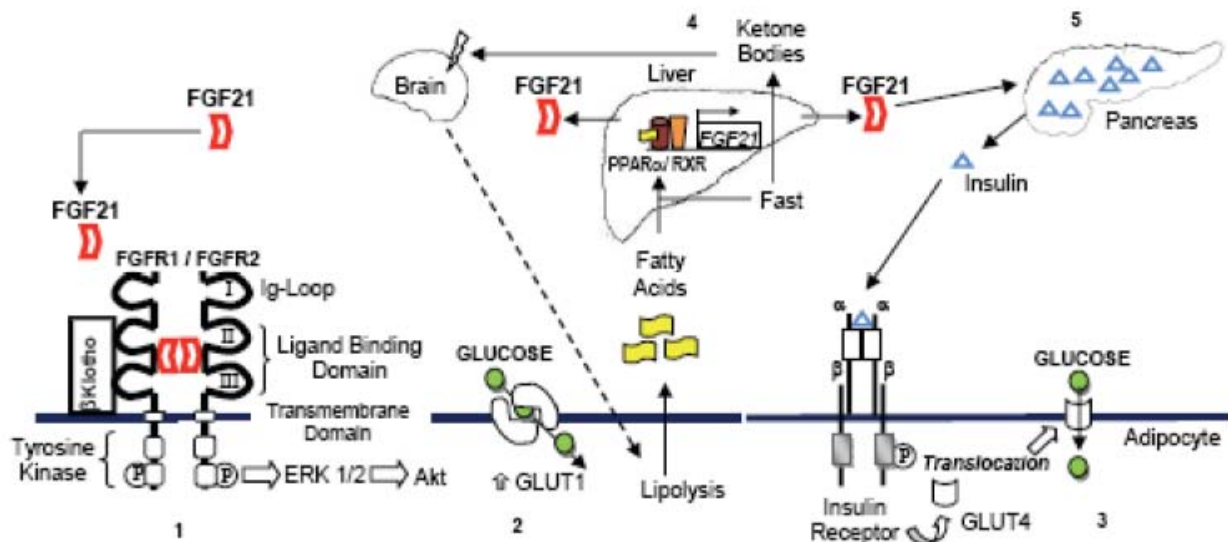


Figura 1. Mecanismos de acción de FGF21 en diferentes tejidos. 1. FGF21 es liberado desde el hígado a la circulación. En el tejido adiposo, se une a su receptor (FGFR) formando un complejo con su co-receptor β Klotho. 2. El efecto principal es el incremento de GLUT1 a la membrana celular. 3. Este mecanismo es independiente a la captación de glucosa inducida por insulina, en donde se utiliza la translocación del GLUT4 a la membrana celular. Al actuar por mecanismos diferentes, se puede observar un efecto aditivo cuando FGF21 e insulina se administran juntos. 4. Después de ayuno prolongado en

ratones, el cerebro induce lipólisis con el subsecuente incremento de ácidos grasos libres en sangre. Los ácidos grasos libres se unen a su receptor PPAR-alfa en hígado, el cual, incrementa la expresión de FGF21 y la formación de cuerpos cetónicos que en tejidos como el cerebro, sirven como fuente de energía en estados de ayuno prolongado. 5. Finalmente, en ratones diabéticos, FGF21 incrementa el contenido de insulina en los islotes pancreáticos y la liberación de insulina inducida sólo en presencia de glucosa (7).

Los estudios clínicos en humanos han mostrado resultados inconsistentes. Se ha reportado una correlación positiva entre FGF21 y múltiples parámetros de obesidad como BMI, circunferencia de cintura, índice cintura/cadera y porcentaje de grasa (8,9). Sin embargo, correlaciones semejantes no han sido encontradas en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de inicio temprano (10). Mientras algunos estudios sugieren un papel de FGF21 en la sensibilidad de la insulina (2,11), otros no confirman esta asociación utilizando una metodología más sólida (ej., clamp hiperglucémico) (9). Aunque la información actual apoya el papel de FGF21 como un regulador metabólico de la captación de glucosa (2), adiposidad y metabolismo de lípidos (8-11), más investigación acerca de su función, regulación y relevancia clínica es necesaria para identificar adecuadamente el papel fisiopatológico de la proteína en síndrome metabólico. Por otro lado, en animales como ratones (2) o monos diabéticos (3), la administración de FGF21 por vía subcutánea induce reducción de glucosa, insulina, triglicéridos y LDL, así como aumento del colesterol HDL. Estas asociaciones han sido inconsistentes en humanos (8-11). De hecho, la asociación más consistente es con glucosa (10,12) y la cual es directa, por lo tanto, existe mayor nivel de FGF21 mientras mayor concentración sanguínea de glucosa exista en el humano. Como se comentó, uno de los principales efectos de FGF21 es inducir captación de glucosa en tejido adiposo. Por ello, esta relación directa entre glucemia y FGF21 podría sugerir un mecanismo compensador con incremento de FGF21 en estados de resistencia a la insulina (como síndrome metabólico) para mejorar la captación de glucosa en tejidos periféricos. Por otro lado, también se ha sugerido que podría existir resistencia a la acción de FGF21 como ocurre con insulina o leptina en otros estados patológicos. Hasta el momento, no se ha aclarado cual es el mecanismo por el cual FGF21 está aumentado en síndrome metabólico. Sin embargo, es claro que el papel que juega FGF21 en humanos es diferente al que realiza en animales de experimentación. En ratones o monos diabéticos, FGF21 participa en mejorar el perfil metabólico, induciendo reducción de peso y mejorando la sensibilidad a la insulina. En humanos, parece estar más asociado con regulación del balance de energía en estados de ayuno prolongado así como un mecanismo adaptativo a la obesidad, como se explica a continuación.

Recientemente se demostró que existe asociación independiente entre FGF21 con síndrome metabólico (4). Dicha asociación se confirmó en mexicanos (13) y al parecer FGF21 es un factor independiente que predice el desarrollo de síndrome metabólico en humanos. Además, el nivel sérico de FGF21 presenta una relación directamente proporcional con el número de componentes del síndrome (13). También se identificó asociación independiente entre FGF21 y parámetros antropométricos y metabólicos como son: IMC, glucosa de ayuno, ácido úrico y nivel de actividad física diaria (13). Alrededor del 20% de la variación del nivel sérico de FGF21 se explicó por estos cuatro parámetros. También se apreció una relación directa entre el nivel de actividad física con el nivel sérico de FGF21 lo cual podría sugerir un impacto del ejercicio en el nivel de la proteína ($F=4.8$, $p=0.009$). Con análisis de regresión lineal se identificó que por cada incremento de 10 kcal/kg/día de actividad física existe un incremento aproximado de 0.5 ng/l de FGF21 ($p=0.004$). Resulta interesante que, tanto el incremento en IMC, glucemia, uricemia y actividad física, inducen mayor incremento en la lipólisis con mayor producción de ácidos grasos libres (AGL) en sangre. Por ello, una explicación factible a los hallazgos mencionados es que los parámetros

clínicos que induzcan mayor producción de AGL en el humano, estarán directamente relacionados con mayor nivel de FGF21. En el síndrome metabólico, el exceso de lípidos entra a vías metabólicas alternativas resultando en la producción de especies reactivas tóxicas. Por ello, FGF21 al incrementar la utilización de AGL puede jugar un papel compensador en contra de los efectos metabólicos desfavorables inducidos por la obesidad. Algunas de las acciones de FGF21 que participan en la adaptación al ayuno pueden limitar el depósito ectópico de lípidos en el individuo con obesidad. La asociación entre glucemia y los niveles de FGF21 van en la misma línea de interpretación. La mayor producción de FGF21 puede compensar los efectos deletéreos de los AGL en la acción de la insulina y la utilización de la glucosa. Una explicación alternativa podría ser que la obesidad y la hiperglucemia causan una respuesta inadecuada a la acción de FGF21 ocasionando incremento en la concentración del factor. Por ello, nosotros proponemos que FGF21 puede formar parte de una respuesta protectora en contra del daño por la exposición crónica de AGL. Otros estudios han mostrado que FGF21 induce gluconeogénesis para la mayor producción de glucosa hepática pero sin incrementar la glucógenolisis (2). La actividad gluconeogénica hepática se incrementa en estados de ayuno para que a partir de otros sustratos como son los aminoácidos, lactato, piruvato y el glicerol se produzca glucosa. De esta manera se integra el sistema de regulación de producción de energía en estados de ayuno con pobre aporte de glucosa.

Nuestros resultados también mostraron que la actividad física tiene una asociación positiva con FGF21 (13). Una explicación factible es que la actividad física estimula lipólisis (27), mayor producción de AGL y activación de PPAR-alfa con la subsecuente expresión de FGF21.

Hasta el momento se desconoce si existe un cambio agudo o crónico en el nivel de FGF21 después de realizar ejercicio. Es claro que la realización de actividad física durante el día incrementa el consumo de glucosa y reduce la masa grasa (27). Como se mencionó, el FGF21 se expresa en tejido adiposo e incrementa la captación de glucosa. Por ello, esta variación en el nivel de glucosa y masa grasa con el ejercicio puede influenciar la secreción de FGF21. Por ejemplo, la actividad física podría resultar en incremento de FGF21 como mecanismo alternativo para aumentar la captación de glucosa. La actividad física incrementa la lipólisis y liberación de AGL en plasma lo cual podría inducir efecto de PPAR-alfa con mayor expresión y liberación hepática de FGF21. Sin embargo, para precisar el impacto que pudiera llegar a tener el ejercicio en el FGF21, más investigación es necesaria. En este proyecto, se propone investigar dicha relación con un diseño de investigación más sólido, para evaluar la posible respuesta de FGF21 a un programa de ejercicio cardiorespiratorio.

Definición del problema

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad con una alta prevalencia nivel mundial y particularmente en nuestro país (15) y es una de las principales causas de muerte de la población adulta (16). La fisiopatología de esta enfermedad involucra factores genéticos y ambientales, dentro de los cuales, el síndrome metabólico reúne características clínicas y bioquímicas fundamentales para su desarrollo. La prevalencia de síndrome metabólico en México es alta. A partir de un estudio a nivel nacional que incluyó a más de 2,500 personas obtenidas por muestreo aleatorio (17), se obtuvo la encuesta del Instituto Nacional de Geografía y Estadística que proporcionó información de la prevalencia de síndrome metabólico en nuestro país. La prevalencia ajustada para edad fue de 26.6% utilizando los criterios del tercer reporte del Grupo Nacional de Educación en Colesterol III (NCEP III) (18).

En los pacientes sin diabetes, la prevalencia de síndrome metabólico fue de 21.4% y 9.2%, respectivamente. El 35% de los casos afectados tenían menos de 40 años de edad. Además, independientemente de los criterios utilizados, el 90% de la población estudiada tenía sobrepeso u

obesidad. Por ello, una gran proporción de casos afectados en nuestro país (~ 6 a 14 millones de personas), califican para recibir acciones (por ejemplo, disminución de peso, uso de medicamentos antihipertensivos o hipolipemiantes, incremento de la actividad física) que prevengan el desarrollo de complicaciones asociadas a síndrome metabólico.

El conocimiento de la fisiopatología del síndrome metabólico y resistencia a la insulina contribuye al entendimiento del problema y los mecanismos involucrados. Recientemente, el nivel sérico de FGF21 ha sido involucrado con estos padecimientos. Además, el gasto energético, estados de ayuno o hiperalimentación, como la obesidad, el metabolismo de lípidos y la actividad física han sido asociados con ésta proteína. Conocer el papel de este factor en situaciones de mayor consumo calórico, como el ejercicio, su asociación con la respuesta adrenérgica y lipolítica puede contribuir a entender mejor cual es papel de FGF21 en la regulación en ambientes de mayor consumo energético y favorecer el aporte de glucosa y ácidos grasos como fuente de energía.

Justificación del estudio

Recientemente se demostró el papel de FGF-21 como elemento clave que une las vías metabólicas del metabolismo de ácidos grasos vía PPAR-alfa con el control de la glucosa y lipoproteínas por vías independientes a la de insulina (4,5,7). El efecto de FGF21 en el metabolismo de la glucosa y lípidos, resistencia a la obesidad y balance de energía han hecho que se considere como un importante regulador del metabolismo corporal.

Hasta la fecha, los niveles circulantes de FGF-21 se han medido en humanos en pacientes con diabetes tipo 2 de inicio temprano (6), en mujeres con anorexia nervosa (20) y en mexicanos con y sin síndrome metabólico (13). En los tres trabajos citados se encontró correlación entre los parámetros de síndrome metabólico y mayor concentración en los niveles séricos de FGF21. Además, se demostró asociación independiente entre IMC, glucosa de ayuno, ácido úrico y actividad física en población mexicana (13). Dichos resultados sugieren que el FGF21 puede modificar sus niveles séricos dependiendo del peso y nivel de glucosa pero también acorde con los niveles de ácido úrico y el nivel de actividad física. El sedentarismo es un importante factor asociado con sobrepeso/obesidad y mayor número de problemas metabólicos. Usualmente, estos trastornos se asocian con exceso de AGL en sangre. En este momento no es claro el papel de FGF21 en síndrome metabólico pues la asociación con resistencia a la insulina es inconsistente (8, 9, 13, 19) y posiblemente esté en relación con la adaptación al ayuno prolongado para preservar aporte energético así como adaptación al exceso de AGL circulantes en trastornos metabólicos o situaciones que inducen lipólisis. Por ello, es importante evaluar con diseños metodológicos más sólidos si otros factores influyen tanto en cambios en distintos parámetros metabólicos como en el nivel de FGF21 y que permitan entender mejor la regulación del factor. Por ello, en este trabajo consideramos justificable confirmar el papel que la actividad física tiene en la regulación del nivel sérico de la proteína.

Objetivos del estudio

a. Objetivo primario

1. Identificar la asociación del gasto energético cuantificado con METs, con el nivel sérico de FGF21 después de realizar un plan de ejercicio cardiorespiratorio.

a. Objetivos secundarios

1. Correlacionar el grado de actividad física tolerada con el cambio en el nivel sérico de FGF21.
2. Correlacionar el nivel sérico de IMC, glucosa, insulina, ácido úrico y ácidos grasos libres con el nivel sérico de FGF21, antes y después del programa de ejercicio.
3. Correlacionar el nivel sérico de epinefrina, el promedio de la frecuencia cardiaca y presión arterial, con el nivel sérico de FGF21.

Hipótesis alterna (dos colas)

El gasto energético cuantificado con METs, al realizar un programa de ejercicio cardiorespiratorio tendrá una asociación directa con el nivel sérico de FGF21.

Material y Métodos

Diseño del estudio

Estudio clínico de intervención antes-después para evaluar el posible cambio del FGF21 en respuesta a ejercicio cardiorespiratorio. Se realizó medición de FGF21 antes y después de un protocolo estandarizado de prueba de esfuerzo en banda continua utilizando el protocolo de Bruce (21).

Descripción de la maniobra o intervención

Actividad física

Los sujetos seleccionados para el estudio fueron sometidos a prueba de esfuerzo utilizando el protocolo de Bruce. Se seguirán las recomendaciones de la Asociación del Colegio de Medicina del Deporte y de Asociación Americana del Corazón (22). Estas recomendaciones sugieren que un individuo entre 18 a 65 años puede realizar actividad física moderada a intensa por un mínimo de 30 minutos durante 5 días a la semana. La recomendación es consumir entre 500 a 1000 METs por semana que se puede traducir a 2.5 horas (150 minutos) de intensidad moderada por semana (30 minutos diarios) (22). La mujer en estudio tendrá que permanecer por lo menos 15 minutos en el 85% de su frecuencia cardiaca máxima. La frecuencia cardiaca máxima = 220-edad. El resultado es el 100%. De este valor se obtendrá el 85% y la mujer en la prueba de esfuerzo tendrá que permanecer por arriba del 85% de la frecuencia cardiaca máxima durante el mayor tiempo tolerado tratando de cumplir 15 minutos.

Con esto en mente, la prueba de esfuerzo se suspenderá en cualquiera de las siguientes circunstancias:

- a. A tolerancia de la mujer en estudio.
- b. Al alcanzar el 100% de su frecuencia cardiaca máxima (por protección de la mujer en estudio)

Diariamente la mujer acudirá a la prueba de esfuerzo. Se seguirá el protocolo de Bruce el cual se describe un poco más adelante. Cuando la mujer alcance el 85% de la frecuencia cardiaca máxima, se mantendrá en esa fase del protocolo de Bruce hasta, idealmente, completar por lo menos 15 minutos. Se espera que la tolerancia al ejercicio aumente en el transcurso de las 2 semanas con mayor consumo de METs de manera progresiva.

Protocolo de Bruce

El protocolo de Bruce para la prueba de esfuerzo consiste en incrementar la inclinación y velocidad de una banda sin fin para realizar caminata o carrera durante 7 fases. En la siguiente tabla se describen las etapas del protocolo, la velocidad e inclinación utilizada, así como el cálculo aproximado de consumo energético en METs (21).

Protocolo de Bruce					
<i>Fase</i>	<i>Velocidad (millas/hr)</i>	<i>Velocidad (km/hr)</i>	<i>Inclinación (%)</i>	<i>METs</i>	<i>Tiempo (minutos)</i>
1	1.7	2.7	10	4.7	3
2	2.5	4.0	12	7.0	3
3	3.4	5.4	14	10.1	3
4	4.2	6.7	16	12.9	3
5	5.0	8.0	18	16.0	3
6	5.5	8.8	20	19.0	3
7	6.0	9.6	22	22.0	3

Los METs son equivalentes metabólicos que expresan el gasto energético de la actividad física. Se obtienen al realizar múltiplos de la tasa metabólica basal. Se calculan como la razón entre el consumo energético durante cierto tipo de actividad física entre la tasa metabólica en reposo definida por convención en 3.5 ml de oxígeno $\text{kg}^{-1}\text{min}^{-1}$ o su equivalente en 1 kcal (o 4.184 kJ) $\text{kg}^{-1}\text{hr}^{-1}$. Por ello, 1 MET es un índice y no una unidad de energía. Por convención, 1 MET se considera el consumo metabólico en reposo en una persona sentada. Los valores de los METs tienen un intervalo de 0.9, en un individuo durmiendo, hasta 18, en un individuo corriendo a 17.5 km/hr. Se utilizan para cuantificar el grado de intensidad de actividad física de la persona. El grado de actividad se puede clasificar en tres niveles:

Intensidad leve: 1.1 - 2.9 METs
 Intensidad moderada: 3.0 – 5.9 METs
 Intensidad vigorosa: 6.0 o más METs

La recomendación es consumir entre 500 a 1000 METs por semana que se puede traducir a 2.5 horas (150 minutos) de intensidad moderada por semana (30 minutos diarios) (22). Con la cuantificación de los METs al permanecer en más del 85% de la frecuencia cardiaca máxima por lo menos 15 minutos se asegurará que la mujer en estudio se encuentre en estrés físico durante las 2 semanas del programa.

Evaluación clínica

- a) Se hará una historia clínica y exploración física completa con el fin de confirmar la presencia de los criterios de inclusión y descartar la presencia de criterios de exclusión (ver adelante).
- b) Se hará además una evaluación de las medidas antropométricas, principalmente, circunferencia de cintura, cadera, talla y peso así como la presión arterial. Además se evaluó datos de composición corporal como masa grasa y masa libre de grasa.
- c) Las mediciones mencionadas se realizaran al inicio y al final del programa de ejercicio cardiorespiratorio.

Evaluación laboratorial

Se midió el nivel de FGF21 en los siguientes momentos: 1) En ayuno, a las 8 AM, el día que iniciarán el programa de ejercicio; 2) una hora y 4 horas después de terminar la primera prueba de esfuerzo y, 3) al terminar el programa de ejercicio después de 2 semanas.

Además, previo ayuno de 8 a 12 horas, las participantes fueron sometidas a una evaluación antes y al final del programa de ejercicio, que consistirá en la realización de los siguientes estudios:

- a) Determinación basal de glucosa e insulina, ácido úrico, creatinina, colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL, y colesterol LDL,
- b) Determinación de ácidos grasos libres en suero,
- c) Determinación de epinefrina en suero,
- d) Las muestras sanguíneas fueron congeladas a -80° C hasta su análisis,
- e) En las mujeres que se encuentren con posibilidades de embarazo, se descartará el mismo con determinación de fracción beta de la gonadotropina coriónica humana.

Cálculo de tamaño de muestra

Muestra para FGF-21

Entre ambos grupos se calcula una diferencia de al menos 80 ng/L en los valores de FGF21. A su vez, la desviación estándar de los valores de FGF21 ha sido calculada en 160 ng/L utilizando datos obtenidos en mujeres de población mexicana (13). Considerando un valor de alfa de 0.05 (dos colas) y beta de 0.20 con un poder de 80% se obtiene un total de 63 individuos, como se describe con la ecuación para estudios con análisis estadístico para variables cuantitativas continuas:

$$N = 2S^2 (Z\alpha + Z\beta)^2 / \Delta^2$$

$$N = 2(160)^2 (1.96 + 0.84)^2 / 80^2$$

$$N = 96,800 (7.84) / 80^2$$

$$N = 63 \text{ sujetos en total (un solo grupo de estudio).}$$

Criterios de inclusión

1. Mujeres
2. Edad 18 a 35 años
3. Sedentarias definido como la carencia de actividad física regular con el objetivo perseguido de mejorar rendimiento físico.
4. Consentimiento informado firmado.

Criterios de exclusión

1. Participantes con alguno de los siguientes padecimientos:

- a. Diabetes, tratamiento con insulina o con hipoglucemiantes orales (ej., metformina).
 - b. Cardiopatía conocida como insuficiencia cardíaca o historia de IAM o EVC.
 - c. Insuficiencia hepática o cirrosis
 - d. Insuficiencia renal (aguda o crónica)
 - e. Insuficiencia vascular periférica.
 - f. Enfermedades crónicas o debilitantes (e.g. VIH, lupus, hepatitis viral)
 - g. Proceso infeccioso agudo (ej. cuadro gripal o diarrea).
2. Síndrome metabólico definido por los criterios de ATPIII.
 3. Consumo de alguno de los siguientes medicamentos:
 - a. Tratamiento para dislipidemias (ej., fibratos o estatinas)
 4. Contraindicaciones para realizar la prueba de esfuerzo, como son:
 - a. Cardiopatía isquémica
 - b. Angina de pecho
 - c. Insuficiencia cardíaca
 - d. Miocarditis o pericarditis aguda
 - e. Infección sistémica aguda
 - f. Trombosis venosa profunda
 - g. Hipertensión no controlada (sistólica >220 mmHg o diastólica > 120 mmHg)
 - h. Estenosis aórtica severa
 - i. Cardiopatía hipertrófica obstructiva severa
 - j. Arritmia cardíaca
 - k. Aneurisma disecante
 - l. Cirugía aórtica reciente
 5. Embarazo o lactancia

Variables a medir y definiciones operacionales

Prueba de esfuerzo con protocolo de Bruce

La prueba de esfuerzo se realizó siguiendo el protocolo de Bruce descrito previamente en el apartado de “*Descripción de la maniobra o intervención*” (21). Se utilizarán los METs como variables cuantitativas continuas que traduzcan el consumo energético del individuo.

Antropometría

Las mediciones antropométricas se realizaron por una licenciada en Nutriología estandarizada y validada para este tipo de mediciones. Los participantes se retirarán sus zapatos y su ropa superior. El peso y la grasa se cuantificarán con báscula tipo Tanita UM-026 con analizador de composición corporal (Tanita, Tokio). Todos los sujetos fueron instruidos para pararse en el centro de la báscula durante la evaluación del peso. La talla se obtendrá utilizando el estadiómetro de pared a piso, nuevamente con la mujer de pie en el centro de la escala. La talla se midió al 0.5 cm más cercano. El IMC se calculará como peso (kg) dividido por talla elevada al cuadrado (m²). La circunferencia de cintura se midió al 0.1 cm más cercano en el nivel de la mayor extensión frontal del abdomen entre el borde costal y la cresta iliaca. A todos los sujetos se les realizó exploración física y se citaron después de ayuno de 8 a 12 horas para las determinaciones antropométricas.

En la evaluación clínica se realizó medición de los siguientes parámetros:

<i>Parámetro</i>	<i>Medición</i>	<i>Tipo de variable</i>	<i>Definición</i>
------------------	-----------------	-------------------------	-------------------

Peso corporal	kg.	Cuantitativa continua	Medición en una báscula calibrada diariamente.
Talla	Metros	Cuantitativa continua	Medición con estadímetro certificado para adultos.
Presión arterial	mmHg	Cuantitativa continua	Después de 5 min. de que el paciente permanezca sentado, en reposo, brazo izquierdo, con un esfigmomanómetro de mercurio apropiadamente calibrado y el brazalete de tamaño adecuado.
Cintura	cm.	Cuantitativa continua	Cinta métrica ajustada milimétricamente. La medición fue realizada por una licenciada en nutriología certificada. Circunferencia mínima entre reborde costal y cresta iliaca.
Cadera	cm.	Cuantitativa continua	Cinta métrica ajustada milimétricamente. La medición fue realizada por una licenciada en nutriología certificada. Circunferencia máxima entre la cintura y los muslos.
Porcentaje de grasa	%	Cuantitativa continua	Impedancia bioeléctrica con técnica pie-pie en báscula tipo Tanita, con el paciente en bipedestación, en ayuno de al menos 8 horas y sin objetos metálicos

Con estos parámetros se calcularán los siguientes índices:

- a) Índice de masa corporal (IMC): $\text{Peso (kg)} / \text{Talla}^2$
b) Índice cintura/cadera (ICC): $\text{Cintura (cm.)} / \text{cadera (cm.)}$

Mediciones bioquímicas

El laboratorio del Departamento de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) realizó todas las mediciones bioquímicas utilizando procedimientos estandarizados. Las mediciones se realizaron con ensayos comerciales. Todos los sujetos se citarán después de ayuno de 8 a 12 horas para las determinaciones bioquímicas. La glucosa, el colesterol total, colesterol de alta densidad (c-HDL) y colesterol de baja densidad (c-LDL) y los triglicéridos fueron determinados utilizando métodos enzimáticos (Boehringer Mannheim). La insulina plasmática fue determinada con un ensayo inmunoenzimático en micropartículas (MEIA, Abbott Laboratories). La creatinina y ácido úrico fueron cuantificados con ensayos colorimétricos comerciales (Beckman Coulter, Inc). Medición de ácidos grasos libres con ensayo colorimétrico enzimático (Roche Lab, Cat No. 11383175001). Todo el equipo estará calibrado con regularidad utilizando las muestras de referencia proporcionadas por el fabricante.

Medición FGF21 séricos

Con un ensayo de ELISA se realizó la medición de FGF21 sérico humano (BioVendor Laboratory Medicine, Modrice, Czech Republic) sin reacción cruzada con otros miembros de la familia de FGFs humanos, FGF básico y adipocinas como RBP4, adiponectina o leptina. La medición se realizó acorde al protocolo del fabricante. Se construirá una curva de calibración entre la absorbencia a 450 nm vs las concentraciones de los calibradores de FGF21 y las concentraciones desconocidas de las muestras. La variación intra e interensayo es de 5.1 y 6.6%, respectivamente (13).

Frecuencia de las mediciones

La evaluación clínica se realizó al inicio del estudio, antes de empezar la prueba de esfuerzo. En ese momento también se tomará la muestra de sangre para las mediciones bioquímicas planeadas. A todos los sujetos estudiados se le volverá a tomar muestra de sangre una hora después de terminar la primera prueba de esfuerzo. También, en toda la muestra evaluada se realizó la medición antropométrica y mediciones bioquímicas dos semanas después, es decir en el momento de terminar el esquema de ejercicio.

Criterios de éxito y falla

Se considerará éxito el incremento en el nivel sérico del FGF21 después del programa de ejercicio. De la misma forma, se considerará falla la ausencia de cambio en el nivel sérico del factor.

Análisis estadístico

Los datos con distribución normal, determinado con la prueba de Kolmogorov-Smirnov, se expresaron como promedios y desviación estándar (\pm DE), mientras que las variables con distribución sesgada fueron reportadas con mediana e intervalo intercuartilar y se realizó transformación logarítmica para aproximarse a una distribución normal de las variables antes del análisis. Las variables categóricas fueron representadas por frecuencia y porcentaje. Se utilizará chi cuadrada, prueba t de Student de muestras independientes, Wilcoxon o U de Mann-Whitney, según corresponda, para la comparación entre variables de cada grupo. La homogeneidad de la varianza se evaluó con la prueba de Levene. Los coeficientes de correlación entre FGF21 y las variables cuantitativas continuas, particularmente los METs de actividad física, se realizó con análisis de Pearson o Spearman y análisis de correlación parcial cuando sea necesario ajustar por IMC. Se realizó ANOVA de una vía para comparar entre los terciles de FGF21 y parámetros cardiometabólicos y de actividad física. Para evaluar el efecto del ejercicio en algunos parámetros clínicos o bioquímicos se utilizó la diferencia entre el nivel final – basal y se indica como “delta”. Se realizó análisis de regresión lineal múltiple a pasos para evaluar los factores independientes en determinar el nivel de FGF21 en la muestra estudiada. Un segundo modelo identificará los parámetros determinantes del nivel de ácidos grasos libres en suero. Se incluyeron en el modelo las variables con correlación significativa con FGF21. Los valores de p reportados se basarán en análisis a dos colas considerando $p \leq 0.05$ como significativa. Se utilizó el programa de estadística SPSS versión 17.0 (SPSS, Chicago, IL).

Resultados

Un total de 60 mujeres con edad promedio de 24.0 ± 3.7 años e IMC promedio de 21.4 ± 7.0 kg/m² fueron evaluadas. Las características basales y finales de la población estudiada se muestran en la tabla 1. Los parámetros antropométricos de las participantes no cambiaron después de dos semanas de actividad física. Se identificaron reducciones significativas en triglicéridos y gamma glutamiltransferasa (GGT) después del programa de ejercicio, sin embargo, permanecieron dentro de intervalos de normalidad (tabla 1).

El 48% de las participantes completaron un total de 9 pruebas. El restante 16.7%, 25% y 10%, completaron 8, 7 y 6 pruebas, respectivamente (tabla 1). La duración promedio de las pruebas de esfuerzo fueron 14.2 ± 1.4 minutos. La mayoría de las participantes alcanzó la etapa 4 con un consumo promedio de METs de 12.2 ± 2.4 . Durante el estudio, se incrementó progresivamente la tolerancia al ejercicio. Inicialmente, el promedio de tiempo de ejercicio en la primera semana (pruebas 1 a 5) fue de 14.0 ± 1.6 minutos. Este tiempo tuvo un incremento discreto pero significativo en la segunda semana (14.5 ± 1.5 min,

p=0.002). De manera semejante, el consumo de METs en la segunda semana fue mayor (12.2 ± 2.3) en comparación con la primera (11.3 ± 2.5 , $p < 0.0001$).

Efectos agudos del ejercicio en FGF21

El nivel basal de glucosa, insulina, FGF21, AGL, epinefrina, leptina y adiponectina se compararon con sus respectivos niveles en la primera y cuarta hora después de la primera sesión de ejercicio (tabla 2). En la primera hora, se demostró un incremento significativo de glucosa ($p=0.01$) e insulina ($p=0.02$). Después, en la cuarta hora, la glucosa disminuyó su nivel por debajo del nivel basal ($p=0.004$) y también disminuyó la insulina pero sin llegar a su nivel inicial ($p=0.001$). El nivel de epinefrina incrementó mientras que el nivel de leptina presentó reducción significativa (todas las $p < 0.01$). Sin embargo, el ejercicio no ocasionó cambios agudos en los AGL, en FGF21 y en adiponectina (tabla 2).

Cambios en FGF21 después de dos semanas de ejercicio

Después de dos semanas de ejercicio, el nivel sérico de FGF21 (276.8 (142.8 - 568.6) vs 460.8 (298.2 - 742.1) ng/L, $p < 0.0001$), y de AGL (0.36 (0.24 - 0.44) vs 0.54 (0.43 - 0.66) mg/dL, $p < 0.0001$) incrementaron significativamente. Además, el nivel de leptina (ng/mL) disminuyó (13.1 (8.2 - 21.1) vs 12.4 (10.0 - 16.2), $p=0.001$). El log de la delta del nivel sérico de FGF21, ajustado para IMC, presentó correlación significativa con la delta epinefrina ($r=0.53$, $p < 0.0001$), consumo de METs ($r=0.40$, $p < 0.0001$), y el incremento de AGL ($r=0.35$, $p < 0.0001$, figura 2). El promedio de la frecuencia cardiaca en reposo ($r=0.43$, $p < 0.0001$) y máxima ($r=0.54$, $p < 0.0001$) también presentó correlación positiva con la delta log de FGF21 (tabla 3). Además, los sujetos en el segundo y tercer tercil de la delta log de FGF21 tuvieron un mayor nivel del promedio de frecuencia cardiaca en reposo (RHR, $p=0.02$), promedio de frecuencia cardiaca máxima (MHR, $p < 0.0001$), promedio de METs ($p=0.008$), delta AGL ($p=0.01$), delta epinefrina ($p=0.008$) y promedio de la presión sistólica máxima ($p=0.05$) y diastólica máxima ($p=0.01$), en comparación con el primer tercil (tabla 4). No se identificó asociación significativa con parámetros antropométricos, presión arterial en reposo y delta leptina con los terciles de la delta log de FGF21.

La delta de AGL presentó correlación positiva con la delta epinefrina, frecuencia cardiaca y METs (tabla 3). El promedio de la presión diastólica máxima ($r=0.25$, $p=0.05$) y presión sistólica máxima ($r=0.26$, $p=0.03$) estuvieron significativamente asociados con la delta de AGL. Interesantemente, el tiempo promedio por prueba ($r=-0.34$, $p=0.007$) tuvo correlación negativa con el incremento en AGL.

El modelo de regresión lineal a pasos confirmó que la glucosa, delta AGL, delta epinefrina, promedio de la RHR, MHR y los METs fueron factores independientemente asociados con el incremento del nivel sérico de FGF21 después del ejercicio ($F=3.48$, $r^2=0.54$, $p < 0.0001$, tabla 5). En un segundo modelo se evaluaron los determinantes del cambio en el nivel de AGL. Resultó interesante que el nivel basal de insulina, el tiempo promedio por prueba de esfuerzo, delta epinefrina y la delta log de FGF21 fueron factores independientes relacionados con el incremento de AGL en suero ($F=3.4$, $r^2=0.44$, $p=0.001$, tabla 5).

Discusión

FGF21 juega un importante papel en el metabolismo de lípidos y carbohidratos y en el balance energético (2,19). Su síntesis y secreción desde el hígado es inducida por el ayuno prolongado y la activación de PPAR-alfa en el humano (8,9). Los principales agonistas de la activación de PPAR-alfa son los ácidos grasos libres. Por ello, se investigó si el incremento de AGL en sangre después de ejercicio intenso produce un efecto en el nivel circulante de FGF21. Los resultados mostraron que el nivel sérico de FGF21 tiene un incremento significativo después de dos semanas de actividad física diaria. Este incremento

estuvo asociado con mayor nivel sérico de AGL. Interesantemente, los METs, RHR, MHR, TAD y TAS máximas, correlacionaron positivamente con el incremento de la proteína.

Recientemente identificamos que los parámetros relacionados con un mayor nivel de lipólisis y AGL en humanos estuvieron asociados con el nivel de FGF21 (13). Estudios previos han mostrado que la secreción de esta hormona mejora la utilización de sustratos de energía (ácidos grasos, cetonas y glucosa) e interfiere con procesos que consumen energía (ej., lipogénesis y crecimiento) (23-26). Por consiguiente, la concentración de FGF21 incrementa en ayuno prolongado (9), con hiperglucemia u obesidad (13). El ejercicio produce mayor consumo de sustratos e incrementa el gasto energético. Estudios previos han mostrado como el ejercicio incrementa la lipólisis a través de la respuesta adrenérgica (27). El efecto de las catecolaminas en receptores beta-3 en tejido adiposo activa la lipólisis e incrementan el nivel sérico de AGL (28,29). Usualmente, el incremento del nivel sérico de AGL está relacionado con el grado de respuesta adrenérgica que a su vez, la respuesta adrenérgica está relacionada con la intensidad de la actividad física (27). La respuesta adrenérgica medida tanto con parámetros clínicos (frecuencia cardiaca y presión arterial) como bioquímicos (epinefrina y norepinefrina) tienen asociación positiva con el nivel sérico de glicerol y AGL (30). Esta respuesta lipolítica es mayor en mujeres en comparación que en hombres (31). Por ello, se investigó si la asociación entre el nivel de FGF21 con AGL, frecuencia cardiaca y presión arterial después de dos semanas de actividad física intensa supervisada en mujeres. Los resultados presentados aquí sugieren que el ejercicio intenso indujo una respuesta adrenérgica clínicamente significativa medida tanto clínica (con frecuencia cardiaca y presión arterial) como bioquímicamente (con epinefrina). Posiblemente, esta respuesta produjo una activación de receptores beta-3 adrenérgicos en tejido adiposo con incremento en la lipólisis que a su vez ocasionó el incremento de los AGL en suero después del programa de ejercicio. El efecto agonista de los AGL en el receptor PPAR-alfa en hígado pudo haber producido el incremento en los niveles de FGF21. El modelo de regresión sugiere que la glucemia, los AGL, la epinefrina, la frecuencia cardiaca y los METs determinaron más del 50% del incremento en el nivel de FGF21 después de dos semanas de actividad física. Por ello, esta investigación clínica sugiere que la respuesta adrenérgica y la lipólisis pudieran influir significativamente en el nivel sérico de FGF21. El tiempo promedio de cada prueba de esfuerzo tuvo una correlación negativa con FGF21. Esto sugiere que las mujeres con menor tolerancia al estrés físico tuvieron mayor respuesta adrenérgica y lipólisis, con la subsecuente liberación de FGF21. Sin embargo, el ejercicio intenso no produjo una secreción aguda de FGF21. Esto pudo haber estado relacionado con el incremento inicial de insulina que en turno inhibió la lipólisis.

Probablemente, FGF21 mejora la utilización de sustratos de energía en humanos con el ejercicio y en otras situaciones clínicas donde la respuesta adrenérgica está involucrada. Por ejemplo, la respuesta adrenérgica incrementa la captación de glucosa en diferentes tejidos (32,33). La captación de glucosa en la periferia pudiera también ser favorecida por FGF21. Adicionalmente, FGF21 pudiera contribuir con mayor disposición de energía incrementando la disposición de sustratos como son los AGL. A su vez, los AGL, incrementarán la liberación de FGF21 por el hígado. Aparentemente, el incremento compensatorio de FGF21 se producirá con el estímulo crónico donde el gasto energético pudiera ser mayor. Además, es posible que el incremento compensatorio de FGF21 previamente reportado en estados de resistencia a la insulina (4,13), como el síndrome metabólico, pudiera estar relacionado con una menor disposición de glucosa como fuente de energía en estos pacientes.

La reducción de leptina después de ejercicio encontrada en este trabajo, también ha sido reportada previamente (34). El mecanismo relacionado es una regulación a la baja de la expresión del gen *Ob* con el entrenamiento físico (35). Más adelante, la expresión del gen de FGF21 pudiera evaluarse en sujetos con y sin el estrés inducido por la actividad física. Además, también se reportó recientemente la ausencia de incremento en el nivel de adiponectina después del ejercicio (36). Los resultados presentados en este

trabajo relacionados con los cambios de leptina y adiponectina después del ejercicio son consistentes con dichos estudios. Finalmente, también se confirmó la asociación negativa entre FGF21 y adiponectina en mujeres reportada previamente (13).

Algunas limitantes de este estudio son el hecho de que no se pudo controlar totalmente otras actividades físicas realizadas por las participantes, la evaluación subjetiva de sedentarismo, el hecho de que los resultados no son aplicables en hombres. Además, no se registró el consumo calórico durante el estudio.

En resumen, el FGF21 sérico tuvo un incremento significativo después de dos semanas de actividad física diaria. Este incremento estuvo relacionado con parámetros clínicos y bioquímicos de respuesta adrenérgica y niveles séricos de AGL.

Referencias

1. **Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N.** 2000 Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim Biophys Acta* 1492: 203–206
2. **Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, Ford AM, Micanovic R, Galbreath EJ, Sandusky GE, Hammond LJ, Moyers JS, Owens RA, Gromada J, Brozinick JT, Hawkins ED, Wroblewski VJ, Li DS, Mehrbod F, Jaskunas SR, Shanafelt AB.** 2005 FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J Clin Invest* 115: 1627-1635
3. **Kharitonov A, Wroblewski WJ, Koester A, Chen YF, Clutinger CK, Tango XT, Hansen BC, Shanafelt AB, Etgen GJ.** 2007 The metabolic state of diabetic monkeys is regulated by FGF21. *Endocrinology* 148: 774-781
4. **Zhang X, Yeung DC, Karpisek M, Stejskal D, Zhou ZG, Liu F, Wong RL, Chow WS, Tso AW, Lam KS, Xu A.** 2008 Serum FGF21 levels are increased in obesity and are independently associated with the metabolic syndrome in humans. *Diabetes* 57: 1246-53
5. **Huating Li, Yuqian Bao, Aimin Xu, Xiaoping Pan, Junxi Lu, Haiya Wu, Huijuan Lu, Kunsan Xiang, and Weiping Jia.** 2009 Serum fibroblast growth factor 21 is associated with adverse lipids profiles and γ -glutamyltransferase but not insulin sensitivity in chinese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 94;2151-2156
6. **Chen WW, Li L, Yang GY, Li K, Qi XY, Zhu W, Tang Y, Liu H, Boden G.** 2007 Circulating FGF21 levels in normal subjects and in newly diagnose patients with type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 116: 65-68
7. **Arner P, Pettersson A, Mitchell PJ, Dunbar JD, Kharitonov A, Rydén M.** 2008 FGF21 attenuates lipolysis in human adipocytes – a possible link to improved insulin sensitivity. *FEBS Lett* 582: 1725-1730
8. **Badman MK, Pissios P, Kennedy AR, Koukos G, Flier JS, Maratos-Flier E.** 2007 Hepatic fibroblast growth factor 21 is regulated by PPAR-alfa and is a key mediator of hepatic lipid metabolism in ketotic states. *Cell Metab* 5: 426-437
9. **Inagaki T, Dutchak P, Zhao G, Ding X, Gautron L, Parameswara V, Li Y, Goetz R, Mohammadi M, Esser V, Elmquist JK, Gerard RD, Burgess SX, Hammer RE, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA.** 2007 Endocrine regulation of the fasting response by PPAR-alfa-mediated induction of FGF21. *Cell Metab* 5: 415-425.
10. **Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, Kotani K, Quadro L, Kahn BB.** 2005 Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 436:356-362
11. **Diez JJ, Iglesias P.** 2003 The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol* 148:293-300
12. **Hara K, Horikoshi M, Yamauchi T, Yago H, Miyazaki O, Ebinuma H, Imai Y, Nagai R, Kadowaki T.** 2006 Measurement of the high-molecular weight form adiponectin in plasma is useful for the prediction of insulin resistance and metabolic syndrome. *Diabetes Care* 29:1357-1362
13. **Cuevas-Ramos D, Almeda-Valdés P, Gómez-Pérez FJ, Meza-Arana CE, Cruz-Bautista I, Arellano-Campos O, Navarrete-López M, Aguilar-Salinas CA.** 2010 Daily physical activity, fasting glucose, uric acid, and body mass index are independent factors associated with serum fibroblast growth factor 21 levels. *Eur J Endocrinol* 163:469-477

14. **Balkau B, Mhamdi L, Oppert JM, Nolan J, Golay A, Porcellati F, Laakso M, Ferrannini E; EGIR-RISC Study Group.** 2008 Physical activity and insulin sensitivity. The RISC Study. *Diabetes* 57:2613-2618
15. **Aguilar-Salinas CA, Vázquez-Chávez C, Gamboa-Marrufo R, et al.** 2001 Prevalence of obesity, diabetes, hypertension and tobacco consumption in an urban adult Mexican population. *Arch Med Res* 32; 446-453
16. **Resnik HE, Howard BV.** 2002 Diabetes and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 53; 245-267
17. **Aguilar-Salinas CA, Rojas R, Gómez-Pérez FJ, et al.** 2004 High prevalence of metabolic syndrome in Mexico. *Arch Med Res* 35; 76-81.
18. **Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults.** 2001 Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285:2486-2497
19. **Cuevas-Ramos D, Almeda-Valdés P, Aguilar-Salinas CA, et al.** 2009 The role of fibroblast growth factor (FGF21) on energy balance, glucose and lipid metabolism. *Curr Diab Rev* 5:216-20.
20. **Dostalova I, Kavaikova P, Haluzikova P, Lacinová Z, Mráz M, Papezová H, Haluzik M.** 2008 Plasma concentration of fibroblast growth factors 19 and 21 in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 3627-3632
21. **Hill J, Timmis A.** 2002 ABC of clinical electrocardiography. Exercise tolerance testing. *Br Med J* 324:1084-1087
22. **Haskell WL, I-Min L, Pate RR, et al.** 2007 Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc* 39:1424-34
23. **Potthoff MJ, Inagaki T, Satapati S, Ding X, He T, Goetz R, Mohammadi M, Finck BN, Mangelsdorf DJ, Kliewer SA & Burgess SC.** 2009 FGF21 induces PGC-1 α and regulates carbohydrate and fatty acid metabolism during the adaptive starvation response. *Proc Natl Acad Sci* 106:10853-10858
24. **Coskun T, Bina HA, Schneider MA, Dunbar JD, Hu CC, Chen Y, Moller DE & Kharitonov A.** 2008 Fibroblast growth factor 21 corrects obesity in mice. *Endocrinology* 149:6018-6027
25. **Kliewer SA & Mangelsdorf DJ.** 2010 Fibroblast growth factor 21: from pharmacology to physiology. *Am J Clin Nutr* 91:254S-257S
26. **Hojman P, Pedersen M, Nielsen RA, Krogh-Madsen R, Yfanti Ch, Akerstrom Th, Nielsen S & Pedersen BK.** 2009 Fibroblast growth factor-21 is induced in human skeletal muscles by hyperinsulinemia. *Diabetes* 58:2797-2801
27. **Henderson GC, Fattor JA, Horning MA, Faghihnia N, Johnson ML, Mau TL, Luke-Zeitoun M, Brooks GA.** 2007 Lypolysis and fatty acid metabolism in men and women during postexercise recovery period. *J Physiol* 584.3:963-981
28. **Hom GJ, Forrest MJ, Bach TJ, Brady E, Candelore MR, Cascieri MA, Fletcher DJ, Fisher MH, Iliff SA, Mathvink R, Metzger J, Pecore V, Saperstein R, Shih T, Weber AE, Wyvratt M, Zafian P, Macintyre DE.** 2001 Beta 3-adrenoreceptor agonist-induced increases in lypolysis, metabolic rate, facial flushing, and reflex tachycardia in anesthetized rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 297;299-307

29. **de Glisezinski I, Larrouy D, Bajzova M, Koppo K, Polak J, Berlan M, Bulow J, Langin D, Marques MA, Crampes F, Lafontan M, Stich V.** 2009 Adrenaline but not noradrenaline is a determinant of exercise-induced lipid mobilization in human subcutaneous adipose tissue. *J Physiol* 587:3393-3404
30. **Wahrenberg H, Bolinder J, Arner P.** 1991 Adrenergic regulation of lipolysis in human fat cells during exercise. *Eur J Clin Invest* 21:534-541
31. **Horton TJ, Dow S, Armstrong M, Donahoo WT.** 2009 Greater systemic lipolysis in women compared with men during moderate-dose infusion of epinephrine and/or norepinephrine. *J Appl Physiol* 107:200-210
32. **Nevezorova J, Evans BA, Bengtsson T, Summers RJ.** 2006 Multiple signaling pathways involved in beta3-adrenoceptor-mediated glucose uptake in rat skeletal muscle cells. *Br J Pharmacol* 147:446-454
33. **Dallner OS, Chernobouva E, Brolinson KA, Bengtsson T.** 2006 Beta3-adrenergic receptors stimulate glucose uptake in brown adipocytes by two mechanisms independently of glucose transporter 4 translocation. *Endocrinology* 147:5730-5739
34. **Turner JE, Markovitch D, Betts JA, Thompson D.** 2010 Nonprescribed physical activity energy expenditure is maintained with structured exercise and implicates a compensatory increase in energy intake. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1009-1016
35. **Friedman JE, Ferrara CM, Aulak KS, Hatzoglou M, McCune SA, Park S, Sherman WM.** 1997 Exercise training down-regulates ob gene expression in the genetically obese SHHF/Mccfa(cp) rat. *Horm Metab Res* 29:214-219
36. **Martinez-Gomez D, Eisenmann JC, Gomez-Martinez S, Veses A, Romeo J, Veiga OL, Marcos A: AFINOS Study Group.** 2011 Associations of physical activity fitness with adipocytokines in adolescents: The AFINOS study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 27; doi:10.1016/j.numecd.2010.07.010

TABLA 1. Parámetros clínicos y bioquímicos de la muestra estudiada antes y después de dos semanas de actividad física supervisada (n=60).

Variab les	Antes	Después	p
Edad (años)	24.0 ± 3.7	-	-
TAS (mmHg)	101.3 ± 10.0	100.4 ± 8.8	NS
TAD (mmHg)	65.7 ± 6.1	64.9 ± 6.1	NS
IMC (kg/m ²)	21.4 ± 7.0	21.3 ± 7.0	NS
Circunferencia cintura (cm)	74.6 ± 8.0	74.3 ± 7.9	NS
Circunferencia cadera (cm)	91.6 ± 6.0	92.3 ± 11.7	NS
Índice Cintura / Cadera	0.81 ± 0.05	0.81 ± 0.07	NS
Porcentaje de grasa (%)	27.6 ± 5.5	28.6 ± 9.1	NS
Masa libre de grasa (gr/kg)	35.7 ± 3.1	35.5 ± 30.1	NS
ALT (IU/l)	14.4 ± 6.6	14.2 ± 5.2	NS
AST (IU/l)	20.1 ± 4.9	19.0 ± 3.9	0.05
GGT (IU/l)	13.0 (11.0 – 17.7)	12.0 (11.0 – 16.0)	0.004
Colesterol (mg/dl)	171.5 ± 38.5	171.9 ± 34.2	NS
Triglicéridos (mg/dl)	101.5 (66.0 – 139.2)	75.5 (60.2 – 99.7)	0.001
HDL-C (mg/dl)	52.4 ± 12.9	53.2 ± 13.6	NS
LDL-C (mg/dl)	99.2 ± 24.7	99.8 ± 25.9	NS
Ácido úrico (mg/dl)	4.4 ± 0.9	4.4 ± 0.9	NS
Creatinina sérica (mg/dl)	0.66 ± 0.11	0.65 ± 0.09	NS
Actividad física diaria (kcal/day)*	1453 (1229-1660)	4359 (3688-4982)	<0.0001
Número de pruebas, n (%)			
6	-	6 (10)	-
7	-	15 (25)	-
8	-	10 (16.7)	-
9	-	29 (48.3)	-

Datos son expresados como promedio ±DE o como mediana (intervalo intercuartilar). NS = no significativo. TAS = tensión arterial sistólica; TAD = presión arterial diastólica; IMC = índice de masa corporal; ALT = alanino aminotransferasa; AST = aspartato aminotransferasa; LDL-C = colesterol de baja densidad; HDL-C = colesterol de alta densidad; GGT = gamma-glutamilttransferasa.

TABLA 2. Comparaciones de los parámetros bioquímicos antes y después de actividad física supervisada (n=60).

Tiempo	N	Parámetro						
		Glucosa (mg/dl)	Insulina (μ U/mL)	FGF21* (ng/L)	AGL (mg/dL)	Epinefrina (pg/mL)	Leptina (ng/mL)	Adiponectina (ng/mL)
Basal	60	86.0 \pm 7.1	8.1 (5.7–11.1)	276.8 (142.8–568.6)	0.36 (0.24–0.44)	9.2 (5.9–12.1)	13.1 (8.7–21.1)	10.1 (8.0–13.4)
1 h después primera sesión	60	89.8 \pm 12.2	10.8 (6.4–13.3)	237.0 (134.0–581.2)	0.34 (0.22–0.47)	10.0 (7.6–14.6)	11.6 (8.3–16.8)	9.9 (8.2–13.3)
4 h después primera sesión	42	85.5 \pm 9.2	9.6 (6.3–12.9)	268.9 (192.8–582.8)	0.29 (0.15–0.41)	10.5 (5.9–14.1)	12.1 (7.8–15.9)	10.3 (8.2–13.2)
Final	60	86.3 \pm 6.4	7.9 (5.4–10.2)	460.8 (298.2–742.1)	0.54 (0.43–0.66)	15.5 (11.3–18.8)	12.4 (10.0–16.2)	10.5 (8.0–13.2)
		<i>p</i>		<i>p ajustada para edad, IMC, WC, glucosa e insulina</i>				
Basal vs 1 h	60	0.01	0.028	NS	NS	<0.0001	<0.0001	NS
Basal vs 4 h	42	0.004	<0.001	NS	NS	0.008	<0.0001	NS
Basal vs Final	60	NS	NS	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.001	NS
1 hr vs 4 h	42	NS	<0.0001	NS	0.048	NS	0.002	NS
1 h vs Final	60	0.021	0.002	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.05	NS
4 h vs Final	42	0.005	0.002	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.009	NS

Datos son expresados como promedio \pm DE o como mediana (intervalo intercuartilar).

*Transformación logarítmica antes del análisis. NS = no significativo. IMC = índice de masa corporal; WC = circunferencia de cintura. AGL=Ácidos grasos libres.

TABLA 3. Correlaciones con la delta log FGF21 (final-basal) con el cambio y el promedio de distintos parámetros relacionados con actividad física, lipólisis y respuesta adrenérgica (n=60).

Variable	DELTA FGF21	DELTA AGL	DELTA Leptina	DELTA Epinefrina	Promedio RHR	Promedio MHR	Promedio METs
DELTA FGF21	-	0.35**	0.13	0.53**	0.43**	0.54**	0.40**
DELTA AGL	-	-	-0.13	0.40**	0.05	0.22*	0.25*
DELTA Leptina	-	-	-	0.11	0.02	-0.35	-0.19
DELTA Epinefrina	-	-	-	-	0.10	0.41**	0.18*
Promedio RHR	-	-	-	-	-	0.20	0.14
Promedio MHR	-	-	-	-	-	-	0.58**

Transformación logarítmica de FGF21 antes del análisis. Todas las correlaciones fueron ajustadas para IMC. FGF21 = Factor de crecimiento fibroblástico 21 (ng/l); RHR= frecuencia cardiaca en reposo; MHR= frecuencia cardiaca máxima; METs = equivalentes metabólicos; AGL= ácidos grasos libres; *p<0.05; **p<0.01.

TABLA 4. Parámetros clínicos y bioquímicos estratificados por terciles de la DELTA de FGF21 sérico (Final-Basal).

Variables	Total	Terciles de la DELTA FGF21 del Nivel Final – Basal (ng/l)*			p
		1 <88 ng/l	2 88-228 ng/l	3 >228 ng/l	
N	60	20	20	20	-
Edad (años)	24.0±3.7	24.4±3.4	24.1±3.3	23.5±4.4	NS
WC basal (cm)	74.6±8.0	75.4±6.3	74.4±8.7	74.1±9.0	NS
IMC basal (kg/m ²)	21.4±7.0	20.6±5.3	20.8±5.8	22.7±9.3	NS
Masa grasa basal (%)	27.6±5.5	27.8±4.7	28.3±6.2	26.9±5.7	NS
Delta AGL (mg/dl)	0.16 (0.09-0.24)	0.10 (0.005-0.18)	0.16 (0.10-0.24)	0.20 (0.13-0.38)	0.01
Delta Epi (pg/ml)	6.05 (3.0-9.7)	2.86 (1.3-6.6)	7.0 (5.1-9.7)	6.9 (4.1-10.4)	0.008
Delta Leptina (ng/ml)	-0.30 (-5.4-3.1)	-0.74 (-5.9-1.2)	0.66 (-5.6-5.4)	0.94 (-3.5-3.1)	NS
Promedio RHR (bpm)	89.5±11.7	86.7±4.2	88.6±7.6	93.2±7.9	0.02
Promedio MHR (bpm)	176.2±12.8	165.2±7.5	181.3±12.3	182.1±10.5	<0.0001
Promedio METs	12.2±2.4	10.9±2.1	13.2±1.7	12.5±2.7	0.008
Promedio TAS reposo	99.3±5.7	100.8±5.5	98.2±5.6	98.8±5.9	NS
Promedio TAD reposo	65.7±3.2	65.5±3.4	65.8±3.4	65.7±3.0	NS
Promedio TAS máx	127.1±11.02	126.7±10.6	131.2±10.8	133.3±10.5	0.05
Promedio TAD máx	72.7±5.7	71.2±5.2	75.6±5.6	76.3±5.4	0.01

Datos expresados como promedio±DE o como mediana (intervalo intercuartilar).

*Transformación logarítmica antes del análisis. NS = no significativo. WC = circunferencia de cintura; IMC = índice de masa corporal; AGL = ácidos grasos libres; Epi = Epinefrina; BPM = latidos por minuto; RHR = promedio de las frecuencias cardiacas en reposo; MHR = promedio de las frecuencias cardiacas máximas; METs = equivalentes metabólicos. TAS = presión arterial sistólica; TAD = presión arterial diastólica. DELTA = nivel Final – Basal.

TABLA 5. Regresión lineal múltiple a pasos de las variables asociadas independientemente con la delta log del nivel de FGF21 sérico (modelo 1) y con ácidos grasos libres (modelo 2).

Modelo 1				
Variables independientes	β	β Estandarizada	t	Valor p
Glucosa basal	0.016	0.208	2.732	0.009
Delta AGL	1.018	0.340	2.823	0.007
Delta Epinefrina	13.88	0.269	2.248	0.030
Promedio MHR	0.021	0.490	3.084	0.004
Promedio METs	0.089	0.389	3.217	0.002
Modelo 2				
Variables independientes	β	β Estandarizada	t	Valor p
Insulina basal	-0.016	-0.376	-2.24	0.03
Tiempo de ejercicio	-0.046	-0.358	-2.52	0.01
Delta Epinefrina	0.014	0.306	2.08	0.04
Delta FGF21	0.170	0.510	3.45	0.001

El análisis también incluyó la edad, el tiempo de ejercicio, creatinina, índice cintura cadera, porcentaje de grasa, índice de masa corporal, presión arterial sistólica y diastólica, y frecuencia cardíaca en reposo, que fueron excluidos en el modelo final. FFAs = ácidos grasos libres. Delta = Nivel Final – Basal. Parámetros del modelo 1: F=3.48; $r^2=0.54$, $p<0.001$. Parámetros del modelo 2: F=3.4; $r^2=0.44$, $p=0.001$.

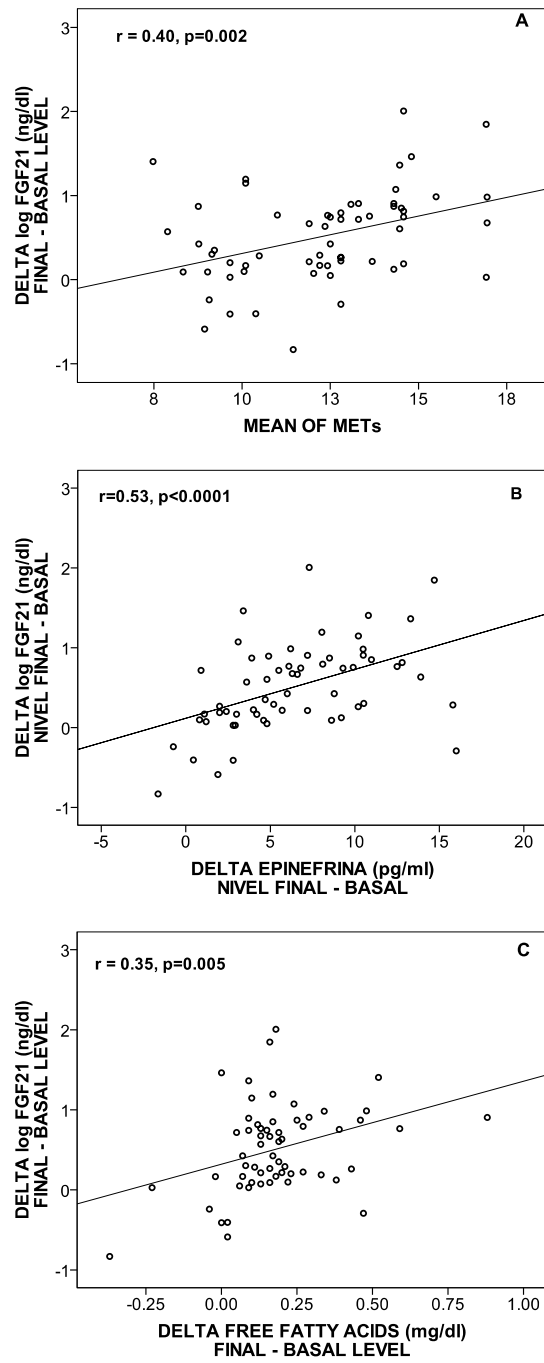


Figura 2. Correlación de la delta log de FGF21 (final-basal) con el nivel de METs (A), delta epinefrina (B) y delta de ácidos grasos libres (C) en 60 mujeres después de 2 semanas de ejercicio supervisado.