

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
SECCIÓN DE FISIOTERAPIA
TRABAJO DE FIN DE GRADO

Ayuno y modulación de la inflamación en fisioterapia.

Ana M^a Cabrera Morales

Alexia Castellano Rodríguez

Tutores:

Juan Elicio Hernández Xumet

Javier Rafael Castro Hernández

CURSO ACADÉMICO 2019-2020

CONVOCATORIA DE JUNIO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
SECCIÓN DE FISIOTERAPIA
TRABAJO DE FIN DE GRADO

Ayuno y modulación de la inflamación en fisioterapia.

Ana M^a Cabrera Morales

Alexia Castellano Rodríguez

Tutores:

Juan Elicio Hernández Xumet

Javier Rafael Castro Hernández

CURSO ACADÉMICO 2019-2020

CONVOCATORIA DE JUNIO

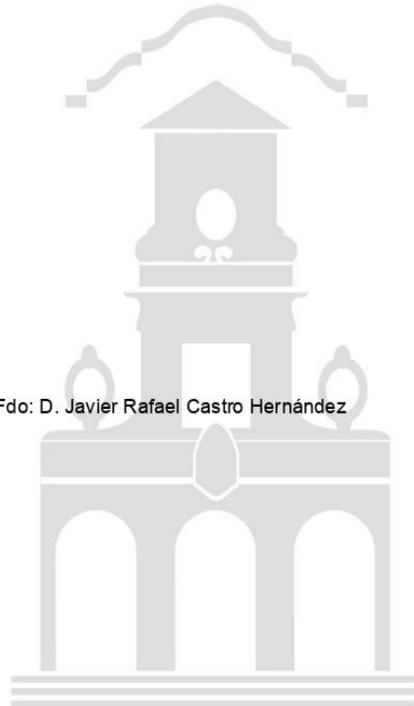
Trabajo Fin de Grado
Conformidad para la presentación de la memoria y defensa

Los profesores D. Juan Elicio Hernández Xumet y D. Javier Rafael Castro Hernández, tutores del trabajo realizado por las alumnas Ana María Cabrera Morales y Alexia Castellano Rodríguez, con el título **Ayuno y modulación de la inflamación en fisioterapia**, damos nuestra aprobación para la presentación de la memoria y a su defensa como Trabajo Fin de Grado.

En La Laguna, a 14 de mayo de 2020

Fdo: D. Juan Elicio Hernández Xumet

Fdo: D. Javier Rafael Castro Hernández



Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
La autenticidad de este documento puede ser comprobada en la dirección: <https://sede.ull.es/validacion/>

Identificador del documento: 2552944□□□□ Código de verificación: yz8r11ny

Firmado por: Juan Elicio Hernández Xumet
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

Fecha: 14/06/2020 20:57:22

Javier Rafael Castro Hernández
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

14/06/2020 21:00:51

Agradecimientos

A nuestro tutor Juan Elicio, quien nos enseñó a ver la fisioterapia desde un punto de vista distintivo, por prestarnos sus ojos para ver más allá de lo convencional y por orientarnos en la realización de este trabajo.

A nuestro cotutor Javier Castro, por su buena predisposición siempre, su conocimiento de la experimentación básica, sus ratones, y sobre todo por su buen humor, sin él este trabajo no hubiera sido posible.

A nuestros padres, alias los JM's por hacer más amenas nuestras tardes de trabajo con sus llamadas y a nuestras madres por animarnos a su manera.

Al grado por hacernos coincidir y forjar nuestra amistad.

A nuestro amigo Aday, quien ha estado detrás de escena ayudándonos con sus dotes tecnológicas.

Por último, a nuestros amigos del grado, por hacernos disfrutar de la universidad como siempre nos han enseñado que sería la mejor etapa de nuestra vida.

RESUMEN:

Introducción: La inflamación de bajo grado se caracteriza por un aumento en la infiltración de macrófagos en tejidos periféricos. Numerosos estudios demuestran que esta inflamación induce cambios fisiológicos en el tejido infiltrado que se relacionan con patologías como la obesidad, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, cáncer y trastornos neurológicos.

Esta inflamación también tiene consecuencias en numerosas patologías que se tratan en el ámbito de la fisioterapia.

El ayuno podría ser una estrategia terapéutica para modular la inflamación. Su aplicación en pacientes nos permitiría determinar el mejor momento para llevar a cabo el tratamiento de fisioterapia y aumentar su efectividad.

Objetivos: Comprobar si el ayuno modula la migración de neutrófilos y monocitos al foco inflamatorio en un modelo de inflamación aguda en ratón.

Material y métodos: Por un lado, se realizó una revisión bibliográfica sobre inflamación de bajo grado, ayuno, experimentación animal y fisioterapia. Por otro lado, se llevó a cabo un estudio experimental del modelo de inflamación aguda en ratón (“air pouch”). Se utilizaron animales de entre 25 y 30 gramos de peso (normopeso). Cinco días tras la creación de la bolsa dorsal, 5 ratones fueron alimentados *ad libitum* y 5 ratones fueron sometidos a un ayuno de 24 horas (fasting). Al día siguiente se inyecta en la bolsa 0,5 ml de Zymosan A al 1% para inducir una inflamación local. Se evalúa la concentración de neutrófilos y macrófagos en el líquido exudado en un citómetro de flujo.

Resultados: Los datos muestran que el ayuno de 24 horas promueve en este modelo de inflamación aguda en ratones un incremento en la migración de monocitos y neutrófilos del 221% y del 156%, respectivamente.

Conclusión: El ayuno aumenta la migración de neutrófilos y macrófagos al foco inflamatorio según el modelo estudiado.

PALABRAS CLAVE: “experimentación animal”, “ayuno intermitente”, “inflamación de bajo grado”, “fisioterapia”.

ABSTRACT:

Introduction: Low-grade inflammation is characterized by an increase in macrophage infiltration in peripheral tissues. Numerous studies show that this inflammation induces physiological changes in the infiltrated tissue that are related to pathologies such as obesity, diabetes mellitus, cardiovascular diseases, cancer and neurological disorders.

This inflammation also has consequences in numerous pathologies that are treated in the field of physiotherapy.

Fasting could be a therapeutic strategy to modulate inflammation. Its application in patients would allow us to determine the best time to carry out the physiotherapy treatment and increase its effectiveness.

Aim: To verify if fasting modulates the migration of neutrophils and monocytes to the inflammatory focus in a murine model of acute inflammation.

Material and methods: On the one hand, a bibliographic review was carried out on low-grade inflammation, fasting, animal experimentation, and physical therapy. On the other hand, an experimental study of the model of acute inflammation in mice (“air pouch”) was carried out. Animals between 25 and 30 grams of weight (normal weight) were used. Five days after the dorsal pouch was created, 5 mice were fed *ad libitum* and 5 mice underwent a 24-hour fast (fasting). The next day, 0.5 ml of 1% Zymosan A was injected into the bag to induce local inflammation. The concentration of neutrophils and macrophages in the exuded liquid is evaluated by flow cytometry.

Results: The data shows that the 24-hour fast promotes, in this model of acute inflammation in mice, an increase in the migration of monocytes and neutrophils of 221% and 156%, respectively.

Conclusion: Fasting increases the migration of neutrophils and macrophages to the inflammatory focus according to the studied model.

KEY WORDS: "animal experimentation", "intermittent fasting", "low grade inflammation", "physiotherapy".

ÍNDICE

1.Introducción	1
1.1 Inflamación	2
1.2 Inflamación de bajo grado	3
1.3 Infiltración de macrófagos en envejecimiento y enfermedades asociadas al síndrome metabólico	4
1.4 Ayuno como estrategia terapéutica para modular la inflamación	5
1.5 Condiciones susceptibles de ser abordadas con una intervención nutricional asociada a la Fisioterapia	7
2.Justificación	10
3.Hipótesis	12
4.Objetivos	12
4.1. Objetivo general:	12
4.2. Objetivos específicos:	12
5. Material y métodos	13
5.1. Metodología de la revisión	13
5.1.1. Criterios de inclusión	13
5.1.2. Criterios de exclusión	14
5.2. Estudio experimental	14
5.2.1. Metodología del estudio experimental.	14
6. Resultados	15
6.1. Resultados de la revisión	15
6.2. Resultados de la experimental	17
7.Discusión	19
7.1 Limitaciones del estudio:	21
8. Conclusiones	22
9. Bibliografía	23
10.ANEXOS	32
Índice de Figuras:	32
Figura 1. Migración de neutrófilos y macrófagos	19
Figura 2. Diagrama de flujo	32

Tabla 1. Diagrama de Gantt	33
---	-----------

1.Introducción

Inflamación y nutrición están íntimamente relacionadas. En las horas que siguen al consumo de una comida, se produce un aumento de las concentraciones de mediadores inflamatorios en el torrente sanguíneo, que es exagerado en los sujetos obesos y en los diabéticos de tipo 2⁽¹⁾ frente a los sujetos sanos, por lo que los patrones de alimentación saludables están asociados con concentraciones más bajas de marcadores inflamatorios en la circulación sanguínea⁽¹⁾.

La inflamación de bajo grado se caracteriza por la elevación en los niveles circulantes de citoquinas pro-inflamatorias, así como aumento en la infiltración de macrófagos en tejidos periféricos⁽²⁾. Numerosos estudios demuestran que este escenario inflamatorio induce cambios fisiológicos en el tejido infiltrado, que se relacionan con las enfermedades asociadas al síndrome metabólico⁽⁹⁾. La inflamación de bajo grado posee una estrecha relación con el desarrollo de enfermedades cardiometabólicas en el paciente con obesidad, por lo que este estado de alteración inmune también ha recibido el nombre de metainflamación⁽³⁾.

Uno de los primeros mecanismos implicados en el inicio de la inflamación de bajo grado es la inflamación en el tejido adiposo blanco o visceral⁽⁴⁾. Histológicamente, la inflamación del tejido adiposo es caracterizada por un infiltrado compuesto, principalmente, por macrófagos y, secundariamente, por linfocitos T citotóxicos, con ausencia o muy poca presencia de neutrófilos⁽²⁾

La inflamación es una de las alteraciones más relevantes en el tratamiento de la fisioterapia. Algunos de los objetivos que abordamos en la fase inicial de la inflamación son reducir el dolor, limitar y reducir los exudados inflamatorios, reducir las demandas metabólicas del tejido, proteger el tejido recién dañado de una lesión mayor, promover el nuevo crecimiento del tejido y la alineación de las fibras; así como, mantener los niveles generales de la actividad cardiovascular y musculoesquelética⁽⁵⁾.

Una de las principales intervenciones usadas, en la fase aguda de la inflamación, es el método conocido como POLICE, cuyo principio se basa en la protección, cargas óptimas, hielo, compresión y elevación de la zona inflamada o el miembro que se esté tratando⁽⁴⁸⁾.

En el caso de una tendinopatía crónica tenemos un gran desconocimiento desde el punto de vista fisioterapéutico. Sin embargo, Curwin hace una serie de propuestas para tratarlas⁽⁶⁾.

Una de estas propuestas es que todas las tendinopatías pueden ser tratadas correctamente si se encuentran en fase aguda. Expone que, para abordarlas, quizás lo más adecuado sea reagudizar la lesión con un masaje transversal profundo intenso, ejercicio vigoroso, etc. Entonces, el tratamiento puede iniciarse con bajo nivel de solicitación y progresar de acuerdo con los síntomas del paciente. De esta forma, se asegura que las lesiones crónicas que estén en fase inflamatoria o proliferativa sean tratadas correctamente⁽⁶⁾.

Por otra parte, en otra propuesta explica que si los efectos del ejercicio y desuso son los mismos para la tendinopatía crónica que para tendones y ligamentos “normales” o en fase de cicatrización, el ejercicio debería tener una influencia positiva sobre la cicatrización del tendón, y por lo tanto, debería ser beneficioso en el tratamiento de dicha patología⁽⁶⁾.

1.1 Inflamación

La inflamación es uno de los mecanismos básicos de defensa con los que cuenta el organismo frente a una agresión, que consiste en una reacción local del tejido lesionado. Existen muchos agentes en el medio ambiente que pueden causar una respuesta inflamatoria, entre ellos, microorganismos, agentes físicos, químicos y traumatismos⁽⁷⁾.

Los cambios intrínsecos al daño celular, se traducen en la liberación o activación de mediadores químicos que conducen a cambios en la microcirculación y el tejido

conectivo. Se inicia así un proceso inflamatorio tendente a generar un exudado con las células necesarias para eliminar el agente y el tejido dañado, por medio de fagocitosis⁽⁷⁾.

1.2 Inflamación de bajo grado

Cuando la inflamación persiste en el tiempo más allá de lo necesario y deja de responder al propósito regenerador, hablamos de inflamación de bajo grado. Se trata de un proceso mucho más complejo, que labra el terreno para la aparición de enfermedades crónicas y daño en nuestros tejidos.

La inflamación de bajo grado puede llevar a sufrir un conjunto de enfermedades que, colectivamente, representan las principales causas de invalidez y mortalidad a nivel mundial, como son: la enfermedad cardiovascular, el cáncer, la diabetes, la enfermedad crónica renal, el hígado graso no alcohólico, las autoinmidades y las enfermedades neurodegenerativas⁽⁸⁾.

Este tipo de inflamación sistémica se caracteriza por concentraciones elevadas de marcadores inflamatorios en sangre⁽¹⁾, donde los macrófagos parecen tener un papel central.

Los macrófagos se dividen en dos grandes subtipos dependiendo de su activación/polarización: por una parte, “clásicamente activados” (M1), implicados en el inicio y mantenimiento de la inflamación, por tanto considerados pro-inflamatorios, y por otro lado, “alternativamente activados” (M2), que poseen propiedades anti-inflamatorias y están implicados en homeostasis tisular⁽³⁶⁾. Los M1 están caracterizados por la producción de elevados niveles de citoquinas pro-inflamatorias y la elevada producción de especies reactivas de oxígeno, y la promoción de respuestas Th1. En cambio, los M2 promueven las respuestas anti-inflamatorias Th2 y regeneración tisular. Por ello, la ratio de activación M1/M2 es considerada en un amplio rango de enfermedades asociadas a la inflamación de bajo grado o el envejecimiento⁽³⁶⁾.

1.3 Infiltración de macrófagos en envejecimiento y enfermedades asociadas al síndrome metabólico

El síndrome metabólico es un término médico utilizado para referirse a la combinación de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión y obesidad. Está bien establecido que todas ellas comparten una característica, inflamación de bajo grado⁽³⁷⁾.

Este síndrome sistémico crónico está caracterizado por la presencia en el suero de elevadas concentraciones de citoquinas pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral (TNF)- α y la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo. El número de macrófagos infiltrados en el tejido adiposo está alterado en estados de obesidad. Por ejemplo, en ratones obesos, los macrófagos constituyen hasta el 45-60% de todo el tejido adiposo, mientras que en ratones delgados solo llegan al 10-15% ⁽¹⁵⁾.

Las citoquinas pro-inflamatorias, producidas por los adipocitos y las sustancias liberadas por la necrosis de los adipocitos, son quimioatrayentes para monocitos (células circulantes en sangre que son precursores de los macrófagos en tejidos), los que, ayudados por el aumento en la expresión de moléculas de adherencia inducida por leptina, pasan de los vasos sanguíneos al tejido adiposo. En este sitio los macrófagos se activan y producen una mayor cantidad de IL-1beta, IL-6 y TNF- α ⁽¹¹⁾⁽¹²⁾. El tejido adiposo de obesos y diabéticos aumenta la producción de mastocitos, potentes inductores de inflamación. Asimismo, aumenta la producción de células T cooperadoras y citotóxicas, pero disminuye en forma importante la población de T supresoras⁽¹²⁾.

La obesidad puede considerarse un ejemplo de condición crónica de elevados nutrientes, donde encontramos hiperglucemia en ayunas e infiltración de macrófagos. Durante este estado hiperglucémico, diversas proteínas como la hemoglobina, la albúmina o las lipoproteínas de baja densidad (LDL), son glucosiladas de manera no enzimática en residuos de lisina y arginina dando origen a los productos finales de glucosilación (AGEs). En células como los macrófagos, estos AGEs pueden unirse a receptores de superficie que tienen sobreexpresados, como el receptor tipo Toll-4 (TLR-4) ⁽¹²⁾. Por lo tanto, estados

metabólicos alterados en la hiperglucemia pueden inducir una respuesta inflamatoria en el macrófago, la misma que puede extenderse posteriormente a nivel sistémico cuando esta célula migra hacia tejido insulino dependiente, como el adiposo, y altera el microambiente de citoquinas presente en el organismo⁽¹²⁾.

Con respecto al envejecimiento, también hay cambios importantes puesto que está asociado con cambios en el sistema inmunológico, incluyendo su componente inflamatorio y su desregulación. Además, va acompañado de un estado inflamatorio crónico de bajo grado que se manifiesta, claramente, en un aumento de 2 a 4 veces de los niveles séricos de varios mediadores inflamatorios⁽⁵⁷⁾.

Durante la juventud, las proteínas inflamatorias solo se elevan en respuesta a alguna agresión. En cambio, con el paso de los años, se observa un aumento mantenido de citoquinas pro-inflamatorias sin que haya enfermedad asociada. Ello es debido a que, a medida que envejecemos, los tejidos acumulan daño oxidativo y disfunciones en las mitocondrias; por lo que pierden capacidad de regeneración. Con la edad descienden también nuestros niveles de hormonas sexuales, importantes moduladores de respuesta inflamatoria en un organismo joven⁽³⁾. Todo ello hace que el envejecimiento sea el factor principal de riesgo para sufrir las enfermedades asociadas a la inflamación de bajo grado, y hace necesario un abordaje terapéutico para retrasar su aparición.

1.4 Ayuno como estrategia terapéutica para modular la inflamación

En condiciones de bajos nutrientes, como ocurre por la mañana temprano tras una noche de ayuno, el sistema nervioso periférico libera noradrenalina en el tejido adiposo, para promover la lipólisis, en lo que se conoce como fenómeno del amanecer⁽³⁸⁾. Esto ocurre cuando el número de monocitos circulantes están bajo mínimos, indicando un control nervioso del sistema inmune⁽³⁹⁾.

La concentración elevada de glucosa, induce un efecto activador en macrófagos, exacerbando la migración de monocitos⁽⁴⁰⁾ y la producción de citoquinas pro-

inflamatorias⁽⁴¹⁾. Esto explica que el ayuno sea una estrategia positiva para el tratamiento de la inflamación.

Es cierto que la respuesta inflamatoria dura sólo unas pocas horas (4-8 h), pero se repite varias veces al día, después de comer ⁽¹³⁾. Sin embargo, nuestro estilo de vida occidental ligado al consumo de más de 3 comidas diarias y cambios en la hora de las comidas favorecen un estado pro-inflamatorio ^(42,43).

El ayuno intermitente es un ciclo regular y repetido de restricción dietética, con propiedades beneficiosas bien conocidas en el cuerpo⁽²⁴⁾. Estudios preclínicos y ensayos clínicos han demostrado que el ayuno intermitente tiene numerosos beneficios para numerosas patologías, tales como la obesidad, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, cánceres y trastornos neurológicos. Los estudios encontrados muestran que el ayuno intermitente mejora la salud a lo largo de la vida. Aunque se centran principalmente en jóvenes con sobrepeso y adultos de mediana edad, por lo que no se puede garantizar dichos beneficios en otros grupos de edad con respecto al ayuno intermitente que se han observado en estos estudios.

Algunos beneficios de los que hablamos puede ser, por ejemplo, con respecto al cáncer, puesto que se ha demostrado que el ayuno o una dieta de ayuno intermitente, reduce la aparición espontánea de tumores durante el envejecimiento normal en roedores, a la vez que aumenta la sensibilidad a la termoterapia e irradiación^(25,26).

Del mismo modo, se cree que el ayuno intermitente perjudica el metabolismo energético en las células cancerosas, inhibiendo su crecimiento y haciéndolas más susceptibles al tratamiento clínico^(27,28).

Además, los datos epidemiológicos sugieren que el exceso de ingesta energética, particularmente en la mediana edad, aumenta los riesgos de accidente cerebrovascular, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson⁽²⁹⁾.

Por otra parte, un estudio multicéntrico mostró que la restricción calórica diaria, mejora mucho los riesgos cardiometabólicos en humanos no obesos^(30,31). Además, seis estudios a corto plazo en adultos con sobrepeso u obesidad, han demostrado que el ayuno intermitente es tan eficaz para perder peso como dietas estándar⁽³²⁾. También dos estudios recientes mostraron que la restricción calórica diaria o ayuno intermitente (ayuno de 24 horas tres veces a la semana) revirtió la resistencia a la insulina, en pacientes con prediabetes o diabetes tipo 2^(33,34).

También en esta línea, un estudio⁽³⁵⁾ defiende que el ayuno puede ser beneficioso en jóvenes con inflamación, ya que hay una correlación entre la obesidad y los marcadores inflamatorios. El resultado es que la obesidad aumenta el riesgo cardiovascular y algunos marcadores inflamatorios. Además, también hay evidencia de que el ayuno intermitente en ratones produce una notable reducción de procesos inflamatorios⁽²⁴⁾.

1.5 Condiciones susceptibles de ser abordadas con una intervención nutricional asociada a la Fisioterapia

- Obesidad

La obesidad es una enfermedad crónica de origen multifactorial con una elevada prevalencia a nivel mundial, que se asocia a complicaciones potencialmente graves y que precisa de un enfoque multidisciplinar por su gran repercusión clínica y elevado coste sanitario. La evidencia más reciente apunta que comparte con otras patologías comunes y de complejo abordaje terapéutico, la existencia de un estado de inflamación de bajo grado, que perpetúa la enfermedad y se asocia a múltiples complicaciones⁽¹⁴⁾.

La lipoinflamación o inflamación crónica asociada a la obesidad y sus múltiples repercusiones sistémicas, se caracterizan por la producción aumentada de adipoquinas pro-inflamatorias, la activación persistente de vías inflamatorias y el déficit de mediadores especializados en la resolución⁽¹⁴⁾.

Por ejemplo, uno de los primeros mecanismos implicados en el inicio de la inflamación sistémica de grado bajo, es la inflamación en el tejido adiposo blanco o visceral⁽⁹⁾. El tejido adiposo es un órgano endocrino y paracrino que libera una gran variedad de citoquinas y biomarcadores, involucrados en el desarrollo de enfermedades crónicas, debido a su efecto directo o indirecto en la resistencia insulínica, la inflamación y la disfunción endotelial⁽¹⁵⁾.

Es interesante un abordaje nutricional en la obesidad, ya que es un determinante de la respuesta inflamatoria postprandial⁽⁴⁷⁾. En los obesos se genera una respuesta inflamatoria exagerada, aunque es reversible al reducir el peso corporal⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾.

- Diabetes mellitus tipo II

En individuos con síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2, se han comprobado elevados niveles de marcadores de inflamación, aproximadamente el doble de los valores normales. Sin embargo, al mismo tiempo, las variaciones de los valores son tan amplias, que los rangos se superponen entre personas obesas y no obesas⁽¹⁶⁾. La magnitud de la respuesta inflamatoria posprandial parece correlacionarse con el grado de resistencia a la insulina.

Numerosos estudios indican que la fisiopatogenia de esta enfermedad está íntimamente relacionada con el proceso inflamatorio sistémico⁽¹⁷⁾.

Además los hijos de personas con diabetes mellitus tipo 2 presentan elevación de marcadores inflamatorios antes de presentar alguna alteración metabólica⁽¹⁸⁾.

Hay que destacar, que en la diabetes mellitus tipo 2 se produce la insulinitis, caracterizada por una liberación continua de interleuquina (IL)-6, IL-8, TNF- α y proteína quimiotáctica de monocitos (MCP)-1, activación de macrófagos insulares y reclutamiento de nuevos monocitos-macrófagos periféricos⁽¹⁹⁾.

- Tabaquismo

Un estudio transversal ⁽²⁰⁾ muestra que los fumadores, en comparación con los no fumadores, presentan marcadores inflamatorios más altos.

El tabaquismo es el factor de riesgo más importante para el desarrollo de diversas patologías cardiovasculares, diferentes tipos de cáncer, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y otras enfermedades. Existen diversos mecanismos por los cuales el tabaco, posiblemente, induce estos diferentes desórdenes. Sin embargo, una vía común es el estado previo de inflamación sistémica que puede preceder o propiciar un fenómeno pro-trombótico y aterogénico⁽²¹⁾.

- El estrés físico y psicológico

Respecto a los cambios fisiológicos bajo una situación de estrés, se producen respuestas altamente complejas que ocurren frente a estímulos, generalmente ambientales, que promueven la inflamación, con activación celular que induce la presencia de una gran corriente de citoquinas, especialmente el TNF- α , la IL-1 y la IL-6. Esto genera la producción de radicales libres de oxígeno, lo que lleva a muerte celular y la perpetuación de un ciclo inflamatorio que se acumula a lo largo del tiempo⁽²²⁾.

La explicación inmunológica y molecular de cómo el estrés interactúa con el riesgo biológico está a nivel de la depresión inmunológica celular⁽²³⁾ y facilita que las infecciones sean más agresivas, complementada por el efecto de las citoquinas liberadas por la inflamación con efecto del alto estrés y el bajo soporte social⁽²³⁾. Recientemente se ha determinado que el alto estrés y la ausencia de soporte social son variables independientes que incrementan la IL-6 ⁽²²⁾.

- Ejercicio y el grado de inflamación

Existe una clara influencia de la actividad física regular y la forma física en la inflamación de bajo grado. Los beneficios para la salud de un estilo de vida físicamente

activo son bien conocidos. La inactividad física y la obesidad también se reconocen cada vez más como factores de riesgo conductuales modificables para una amplia gama de enfermedades crónicas, y en particular para las enfermedades cardiovasculares.

- Efecto del ejercicio en las personas mayores.

Las personas mayores tienen niveles basales de inflamación más altos, y se ha llevado a cabo un número considerable de estudios en esta población para evaluar las asociaciones entre la actividad física y los marcadores inflamatorios⁽¹⁾.

- Hipercolesterolemia

Se sugiere un patrón inflamatorio crónico en las células de la inmunidad innata, que está relacionado con los cambios epigenéticos inducidos por la exposición crónica a niveles altos de LDL (58).

2. Justificación

Diversas estrategias terapéuticas basadas en la dieta, como son el ayuno intermitente o la restricción calórica, han demostrado mejorar la salud a lo largo de la vida, aportando numerosos beneficios ante diversas patologías, como la obesidad, diabetes mellitus, enfermedades cardiovasculares, cáncer y trastornos neurológicos donde la inflamación juega un papel fundamental.

Con este estudio pretendemos realizar una revisión sobre la evidencia científica actual para contrastar nuestra hipótesis de que existe un potencial, para mejorar la respuesta a la fisioterapia, mediante un control de los hábitos de vida de la persona, la orientación básica y educación al respecto, además de la derivación a otro profesional sanitario para pautas y tratamientos avanzados en este aspecto; y la combinación de estos aspectos para una correcta planificación, y aplicación de nuestro tratamiento para una optimización de los resultados.

Además, se desarrollarán experimentos en ratones, para intentar obtener datos preliminares sobre el papel del ayuno en la migración de monocitos al foco inflamatorio mediante un modelo de inflamación aguda en ratones.

Actualmente, en el ámbito de la fisioterapia hay pocas referencias experimentales con animales. Por lo tanto, todavía queda bastante por investigar en esta rama y resulta muy atractivo para generar bases sólidas de cara a la aplicación de nuestros procedimientos. Emplear la experimentación en ratones nos ha permitido controlar el ayuno de una forma más eficiente.

Se encuentran pocas referencias que relacionen la inflamación de bajo grado con la aplicación de técnicas de fisioterapia, aspecto que consideramos de bastante relevancia en la profesión, ya que con la aplicación de ciertas técnicas modulamos dicha inflamación.

Tras la ingesta calórica aumenta la inflamación⁽¹⁵⁾. Este factor gana importancia, sobre todo, cuando los pacientes presentan patologías que exacerban esta respuesta inflamatoria, como puede ser la diabetes tipo II, la obesidad o el sobrepeso, y la manera en la que influye en momento de aplicar el tratamiento de fisioterapia.

Por otra parte, hay patologías que pueden no estar diagnosticadas, pero que también influyen en la inflamación de la misma forma, como puede ser la hiperglucemia subclínica. Por todo esto nos planteamos: ¿No sería interesante abordar al paciente desde un punto de vista holístico y no solo centrarnos en tratar una zona concreta? Es decir, controlar aquellos parámetros del paciente que puedan influir en la eficacia del tratamiento. Por ejemplo, si acude a nuestra consulta un paciente con prótesis de rodilla, pero que además tiene sobrepeso. Debemos conocer cómo influye el sobrepeso en la inflamación de bajo grado en relación con el momento óptimo para realizar el tratamiento de fisioterapia. Nuestro objetivo no debería ser únicamente la rehabilitación de esa prótesis, sino la salud en general del paciente.

La ciencia básica busca profundizar en el conocimiento de la biomedicina, para proponer soluciones y encontrar nuevos abordajes terapéuticos. En este trabajo buscamos promover la práctica, basada en la evidencia, y fomentar así el crecimiento de la profesión.

Esperamos que este trabajo pueda liderar un cambio en el paradigma de pacientes tratados con Fisioterapia.

3.Hipótesis

El ayuno intermitente reduce la inflamación de bajo grado mejorando la respuesta innata en el foco inflamatorio. Por lo tanto, el ayuno intermitente podría ser una estrategia complementaria en Fisioterapia.

4.Objetivos

4.1. Objetivo general:

- Comprobar si existe una disminución en el grado de inflamación en aquellos sujetos sometidos a ayuno.

4.2. Objetivos específicos:

- Estudiar la migración de neutrófilos y monocitos al foco inflamatorio en un modelo de inflamación aguda en ratón
- Reafirmar si el ayuno beneficia el tratamiento fisioterápico en patologías inflamatorias.

5. Material y métodos

5.1. Metodología de la revisión

Se ha realizado una revisión bibliográfica con el objetivo de encontrar publicaciones e investigaciones actualizadas que relacionen la fisioterapia, la inflamación, la experimentación animal y el ayuno entre sí.

Para la realización de esta revisión hemos realizado la búsqueda a través de Punto Q, recurso bibliográfico de la Universidad de La Laguna. Por medio de él hemos accedido a las bases de datos Scopus y Pubmed.

La búsqueda se efectuó desde el mes de noviembre de 2019 hasta mayo del 2020.

Para la obtención de los artículos empleados hemos utilizado las siguientes palabras claves: “obesity”, “intermittent fasting”, “low grade inflammation”, “inflammation”, “diabetes”, “macrophage”, “cytokines”, “caloric restriction”, ”POLICE” y “connective tissue”. Por otra parte, hay que destacar que combinamos las palabras “physiotherapy” e “inflammation” pero no encontramos resultados adecuados para el tema que tratamos.

En cada una de las bases de datos, se emplearon distintas combinaciones de términos de búsqueda con el objetivo de encontrar la mayor cantidad posible de artículos utilizables (Figura 1).

5.1.1. Criterios de inclusión

- Artículos que estén disponibles en modo “Full Text”.
- Ensayos clínicos.
- Revisiones bibliográficas.
- Artículos publicados entre los años 2000 y 2020 (ambos inclusive).
- Artículos publicados en inglés o en castellano.
- Investigaciones realizadas en animales y/o humanos.

5.1.2. Criterios de exclusión

- Artículos que no tengan carácter actual.
- Artículos que no presenten resultados
- Estudios que no demuestren la suficiente evidencia científica
- Estudio de casos únicos

5.2. Estudio experimental

Se realizó el experimento del modelo de inflamación aguda en ratones (*air pouch*) utilizando ratones C57BL/6J machos, entre 25 y 30 gramos de peso (n=10) como se ha descrito previamente⁽⁶⁰⁾.

5.2.1. Metodología del estudio experimental.

Los ratones fueron colocados en jaulas individuales y se les inyectó 5 ml de aire estéril (filtrado) a cada uno en el dorso. A los dos días se rellenó la bolsa con la inyección de 2 ml de aire estéril. Cinco días tras la creación de la bolsa dorsal, 5 ratones fueron alimentados *ad libitum* (WT), 5 ratones fueron sometidos a un ayuno de 24 horas (ayuno). Seis días después de la inyección inicial de 5 ml de aire estéril en el dorso de los ratones, en las bolsas se inyectan 0,5 ml de zymosan A (Sigma) al 1%, para inducir una inflamación local. Previamente, los ratones WT *ad libitum* fueron inyectados con 100 μ l de una solución de 2 mg / Kg peso de glucosa en suero salino intraperitonealmente (i.p), debido a que se ha descrito que los roedores típicamente consumen la totalidad de las calorías en unas pocas horas, teniendo periodos de ayuno de hasta 20 horas. El resto de animales fue inyectado con vehículo (salino) i.p. Tras 4 h de la administración del zymosan A los animales son sacrificados por dislocación cervical y el exudado de las bolsas de aire se recogerá mediante la instilación y recuperación de 5 ml de solución tampón fría. Del volumen recogido, 1ml es centrifugado durante 5 minutos a 1500 revoluciones por minuto (r.p.m), y el pellet es resuspendido en un volumen de 200 μ l de FACS buffer (PBS 1X +

2% de suero fetal bovino, FBS). La concentración de neutrófilos y macrófagos en el líquido exudado se evaluó por características de tamaño y complejidad en un citómetro volumétrico Accuri C6 (BD Biosciences).

5.2.1.1. Estadística

Se realizó test t-student no pareados (Graphpad Prism, versión 6, USA), considerando $p < 0.05$ (*) como estadísticamente significativo. Todos los resultados son expresados como media \pm desviación estándar de la media.

6. Resultados

6.1. Resultados de la revisión

La búsqueda en el recurso bibliográfico de la Universidad de La Laguna, Punto Q, nos llevó a distintas bases de datos como *Pubmed*, *ScienceDirect* y revistas científicas. En este recurso bibliográfico se buscaron las palabras: “*inflammation*”, “*intermittent fasting*”, “*systemic inflammation*” y “*macrophages*”. En primer lugar, se buscó “*inflammation*” obteniendo 1.028.416, después de aplicar los criterios de exclusión e inclusión y leer de forma crítica varios artículos escogimos 3 revisiones bibliográficas. Por otra parte, se introdujo “*caloric restriction*” en la barra de búsqueda, en este caso adquirieron 22.221 resultados escogiendo 1 artículo tras la aplicación de los filtros. Por consiguiente, se buscó “*intermittent fasting*” obteniendo 8.621 y tras la aplicación de los filtros de búsqueda, se escogieron 2 artículos. Otra de las búsquedas se llevó a cabo con los términos “*systemic inflammation*” obteniendo 1.228.567 resultados y escogiendo 1 artículo. Además, también se buscó el término “*macrophages*” obteniendo 277.959 y escogiendo 1 artículo. Por último, cerramos estas búsquedas en Punto Q con el término “*cytokines*” obteniendo 526.017 y escogiendo 1 artículo.

Por otra parte, en la base de datos *Google Académico* se han utilizado las palabras: “*systemic inflammation*”, “*obesity*”, “*inflammation*”, “*intermittent fasting*”. Por una parte, al insertar el término “*systemic inflammation*” en la barra de búsqueda se obtuvo 4.080.000 resultados en total. Tras la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión decidimos escoger 1 artículo. Por otra parte, al buscar la palabra clave “*obesity*” obtuvimos 2.790.000. En este caso escogimos 1 artículo. Además, realizamos la búsqueda de la palabra “*inflammation*” obteniendo 4.080.000 resultados. Tras la aplicación de los filtros seleccionamos 1 artículo. Por último, se buscó el concepto “*intermittent fasting*” escogiendo finalmente 1 artículo.

Además, realizamos otras búsquedas en la base de datos *Pubmed*, en este caso las palabras claves fueron: “*systemic inflammation*”, “*diabetes*”, “*inflammation*”, “*obesity*”, “*macrophages*”, “*cytokine*”, “*intermittent fasting*”, “*caloric restriction*”, “*innate immunity*”. Al insertar la palabra “*inflammation*” resultan 757.099 artículos, de los que escogimos 7 artículos. En segundo lugar, se buscaron los términos “*systemic inflammation*” resultando 66.869 artículos, aplicando los filtros pertinentes seleccionamos 1 artículo. También introdujimos en la barra de búsqueda la palabra “*diabetes*” obteniendo 3.330.000 resultados totales, al aplicar los criterios de inclusión y exclusión se escogieron 8 artículos. Por otra parte, se buscó la palabra “*obesity*” resultando 2.790.000 resultados, seleccionando 7 artículos. La siguiente búsqueda fue insertando el término “*macrophages*”, se obtuvieron 320.325 resultados, finalmente se escogieron 3 artículos. Además de esto, se buscó el término “*cytokine*” resultando 823.196 resultados totales, finalmente se escogió 1 artículo. Otra búsqueda fue con el término “*intermittent fasting*” obteniendo 120.990 artículos de los cuales se seleccionaron 7 artículos. También se buscaron los términos “*caloric restriction*” obteniendo 9.266 artículos, tras la aplicación de los filtros se seleccionó 1 artículo. Por último, se introdujo la palabra “*connective tissue*” obteniendo un total de 395.451 resultados, de los cuales se seleccionó 1 solo artículo, y con “*POLICE*” había 26.048 artículos totales de los cuales se escogió 1.

La última base de datos consultada fue *ScienceDirect*, de esta seleccionamos 1 artículo bajo la palabra clave “*obesity*”.

6.2. Resultados de la experimental

El ayuno de 24 horas mejora la inmunidad innata en un modelo de inflamación aguda en ratón (*Air Pouch*)

Para investigar el papel del ayuno en la modulación de la inmunidad innata en ratones empleamos el modelo de inflamación aguda inducida por Zymosan A (*Air Pouch*).

Nuestro objetivo era el estudio de la migración de monocitos y neutrófilos al foco inflamatorio en este modelo mediante el uso de la citometría de flujo. Para ello, dado que las poblaciones co-expresan diversos marcadores que complican su diferenciación, empleamos la caracterización mediante tamaño celular (Forward-Scatter, FSC) y expresión del receptor adrenérgico $\alpha 2B$, estudiando las células migradas en exudados de ratones sometidos al protocolo explicado en material y métodos para el modelo de *air pouch*.

Nuestros resultados muestran que los macrófagos son células de mayor tamaño y mayor expresión de $\alpha 2B$ (**Fig 1A**). Esto nos permitió definir las ventanas de detección por tamaño (FSC) y complejidad (SSC) que fueron utilizadas para nuestro estudio (**Fig. 1B**). Nuestros resultados indican que el ayuno de 24 horas induce un aumento tanto en la migración de monocitos (**Fig 1C**. WT $73,2 \times 10^3 \pm 14,5$ vs. Ayuno $161.8 \times 10^3 \pm 16.2$; * $p < 0.05$), como de neutrófilos (**Fig 1D**. WT $4.8 \times 10^6 \pm 0.5$ vs. Ayuno $7.5 \times 10^6 \pm 0.6$; * $p < 0.05$) al foco inflamatorio tras 4 horas de la inyección del quimioatrayente (Zymosan A). Estos datos muestran que el ayuno de 24 horas promueve, en este modelo de inflamación aguda en ratones, un incremento en la migración de monocitos y neutrófilos del 221% y del 156%, respectivamente.

Figura 1

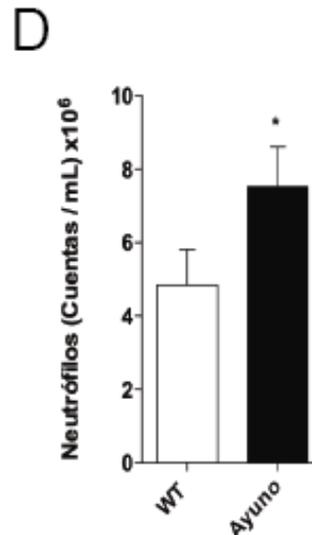
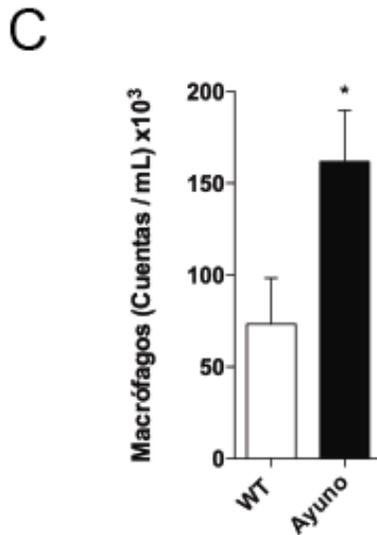
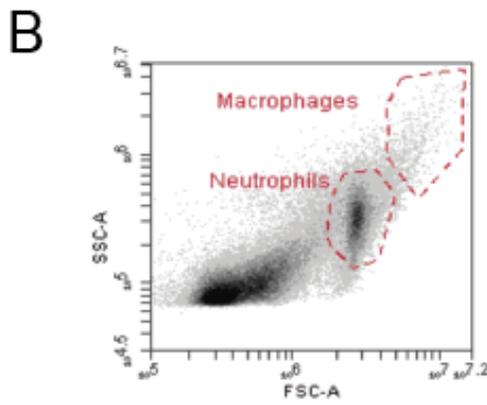
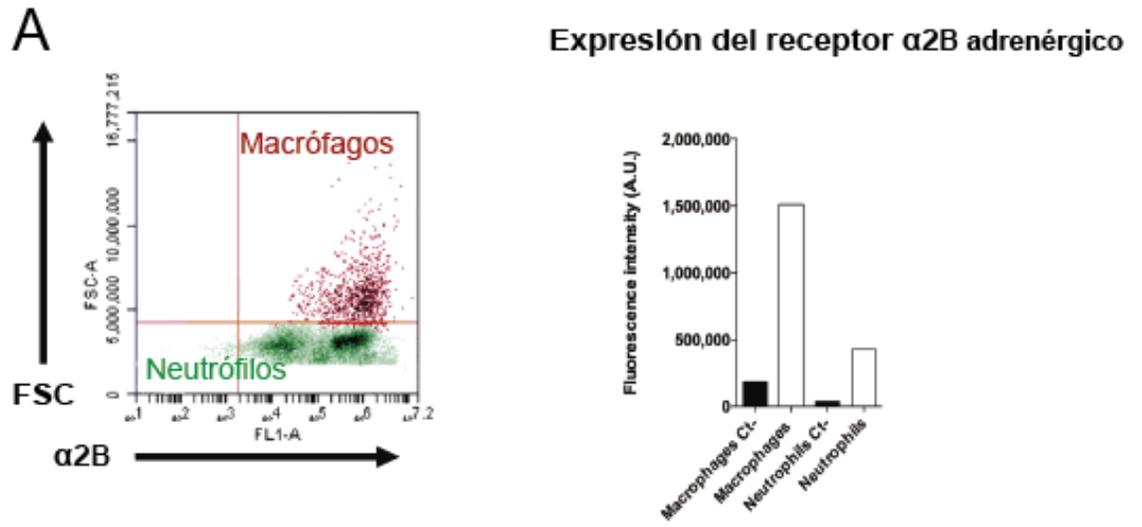


Figura 1. Migración de neutrófilos y macrófagos

Caracterización de macrófagos y neutrófilos por tamaño y expresión de receptor adrenérgico $\alpha 2B$ en el modelo de inflamación “*air pouch*” por citometría de flujo. Datos expresados en unidades arbitrarias de fluorescencia (A.U.) **(A)** Determinación de las ventanas de detección de neutrófilos y macrófagos para su separación por tamaño (FSC) y complejidad (SSC) celular **(B)** Migración de macrófagos al foco inflamatorio en el modelo de inflamación “*air pouch*” en ratones alimentados *ad libitum* (WT) y sometidos a ayuno de 24 horas (Ayuno) **(C)** Migración de neutrófilos al foco inflamatorio en el modelo de inflamación “*air pouch*” en ratones alimentados *ad libitum* (WT) y sometidos a ayuno de 24 horas (Ayuno).

7.Discusión

El presente trabajo tenía como objetivo el estudio del grado de inflamación en sujetos sometidos a ayuno. Nuestros resultados experimentales obtenidos por un modelo murino de inflamación aguda indican que el ayuno de 24h mejora la inmunidad innata en ratones, favoreciendo una mayor migración de monocitos y neutrófilos hacia el foco inflamatorio. Esto supone una evidencia más que establece la relación entre el ayuno intermitente y los cambios que se producen en la inflamación ⁽²⁴⁾.

El modelo de inflamación aguda de “*air pouch*” con Zymosan A simula una inflamación aguda y evalúa en nuestro caso la respuesta inmune innata, ya que se recogen los datos a las 4 horas tras la inoculación del quimioatrayente. El Zymosan A es un polisacárido que se extrae de *Saccharomyces cerevisiae* y que ha servido como un modelo para el reconocimiento de microbios por el sistema inmune innato por más de 70 años, pero también se ha establecido como modelo para el estudio de la inflamación articular⁽⁴⁹⁾. Su contacto directo con macrófagos dispara la producción de citoquinas pro-inflamatorias desencadenando la respuesta inmune innata⁽⁵⁰⁾. La deficiente migración de macrófagos y neutrófilos en ratones alimentados *ad libitum* apoya que la obesidad sea un factor de riesgo

para diferentes tipos de infecciones como son las quirúrgicas, nosocomiales, infecciones de la piel o periodontitis ⁽⁵¹⁾, apoya datos que indican que la obesidad es un factor de empeoramiento una vez hemos sido infectados, como ocurre en el virus de la gripe o el propio SARS-CoV-2 ^(52,53). Pero también indica que la hiperglucemia y la obesidad podrían ser un factor de retraso en la recuperación de lesiones. De hecho, la diabetes se ha relacionado con la enfermedad del manguito rotador y la capsulitis adhesiva⁽⁵⁴⁾, afecciones donde se han encontrado mayor rigidez e inflamación. Además, investigadores encontraron que ratones obesos tardaban más tiempo en recuperarse de una fractura ósea ⁽⁵⁵⁾. Nuestros datos sugieren que el ayuno de 24 horas mejora la respuesta inmune innata a una inflamación aguda, pero es necesario realizar más experimentos para estudiar el impacto que tiene en la recuperación de lesiones.

Esto pone de manifiesto que es de suma importancia determinar y controlar ciertos factores que pueden determinar la salud general del paciente, como la dieta⁽¹⁵⁾ que puede influir la expresión y la secreción de estos biomarcadores en diferentes tejidos, lo que afecta al estado inflamatorio⁽¹⁵⁾, alteraciones del sueño⁽⁵⁹⁾, obesidad u otras condiciones que puedan ser un determinante ya que todo esto tiene influencia en la inflamación de bajo grado, y por consiguiente, en el tratamiento de fisioterapia. Además, sería interesante controlar los datos antropométricos del paciente, puesto que influye en la aparición o incremento de la inflamación de bajo grado. Por esto, sería interesante abordar al paciente desde un punto de vista holístico y no solo centrarnos en el tratamiento de una zona concreta. En el caso de una tendinopatía, por ejemplo, del miembro inferior, es interesante tener en cuenta los datos antropométricos para realizar un abordaje más eficaz. Si sabemos que la obesidad y el sobrepeso producen resistencias en la migración de los macrófagos y neutrófilos al foco inflamatorio sería interesante conocer los niveles de masa grasa del paciente y abordar este aspecto, es decir, centrarnos en la salud general del paciente.

Por otra parte, a la hora de realizar el tratamiento, el ejercicio y, por consiguiente, el movimiento, es una herramienta fundamental para mejorar la vascularización y responder a la inflamación.

Además, cabe destacar que las neuronas mediadoras del hambre suprimen el dolor inflamatorio a largo plazo. Alhadeff y colaboradores demostraron, privando a ratones de alimento durante 24 h, que la respuesta al dolor inflamatorio a largo plazo (relacionado con enfermedades crónicas) y la recuperación de lesiones se reducía en comparación a los ratones que no se habían privado de alimento⁽⁵⁶⁾.

Con esto indicamos que sería interesante controlar dichos factores para optimizar los resultados en el tratamiento, así como el intervalo de tiempo entre ingestas de comida con el momento de realizar el tratamiento de fisioterapia. Se ha demostrado que varios componentes del sistema inmunológico innato (adipocitos, macrófagos...) responden a una elevación aguda postprandial. Esto nos indicara que después de la ingesta de comida tendría lugar una inflamación aguda⁽⁴⁴⁾.

Sin embargo, no se halla ningún artículo que corrobore la aplicación de las distintas técnicas de fisioterapia y su influencia con la inflamación de bajo grado, por lo que consideramos que aún hay mucho que investigar en esta línea de estudio. Es por ello que planteamos un proyecto de estudio comparativo entre dos grupos de personas con sobrepeso, para demostrar cambios en los marcadores inflamatorios tras la aplicación de fisioterapia. Controlando estos parámetros podríamos incluso llegar a disminuir la aparición de enfermedades y recidiva en patologías de base. Todo ello sería más fácil si la población tuviera conocimientos de sus propias patologías, y esta tarea es responsabilidad de nosotros como sanitarios, la educación en salud.

7.1 Limitaciones del estudio:

- El tiempo de ayuno en ratones es mayor que en personas, “tienen un período de ayuno diario de hasta 20 horas, durante el cual ocurre la cetogénesis”⁽¹⁰⁾.
- El experimento solo pudo realizarse una vez debido a la irrupción de la pandemia por el virus SARS-CoV-2, causante de la enfermedad COVID-19, que ha establecido el confinamiento general en nuestro país desde el día 14 de marzo.

- No se ha podido confrontar si el ayuno beneficia el tratamiento fisioterápico en patologías inflamatorias, aunque dado los resultados en la experimentación animal sería interesante realizarlo en humanos junto a la aplicación de técnicas de fisioterapia.

8. Conclusiones

Las evidencias de investigación básica en fisioterapia son insuficientes. También las evidencias en el uso de modelos de experimentación en fisioterapia.

El ayuno aumenta la migración de neutrófilos y macrófagos al foco inflamatorio según el modelo estudiado.

9. Bibliografía

1. CALDER P, AHLUWALIA N, BROUNS F, BUETLER T, CLEMENT K, CUNNINGHAM K et al. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *British Journal of Nutrition*. 2011;106.
2. LEÓN-PEDROZA J, GONZÁLEZ-TAPIA L, DEL OLMO-GIL E, CASTELLANOS-RPDRÍGUEZ D, ESCOBEDO G, GONZÁLEZ-CHÁLEZ A. Inflamación sistémica de grado bajo y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas: de la evidencia molecular a la aplicación clínica. *Cirugía y Cirujanos*. 2015;83(6):543-551.
3. KITAMURA H, KIMURA S, SHIMAMOTO Y, OKABE J, ITO M, MIYAMOTO T et al. Ubiquitin-specific protease 2-69 in macrophages potentially modulates meta-inflammation. *The FASEB Journal*. 2013;27(12):4940-4953.
4. CALDER P, ALBERS R, ANTOINE J, BLUM S, BOURDET-SICARD R, FERNS G et al. Inflammatory Disease Processes and Interactions with Nutrition. *British Journal of Nutrition*. 2009;101(S1):1-45.
5. PORTER S, TIDY N. *Tidy's physiotherapy*. Edinburgh: Saunders Elsevier; 2013.
6. PHADKE C. Why Should Physical Therapists Care about Their Patients' Diet?. *Physiotherapy Canada*. 2017;69(2):99-101.
7. VILLALBA HERRERA E. INFLAMACION I. *Revista de Actualización Clínica Investiga*. 2014;43.

8. Furman D, Campisi J, Verdin E, Carrera-Bastos P, Targ S, Franceschi C et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Medicine*. 2019;25(12):1822-1832.
9. LUMENG C, BODZIN J, SALTIEL A. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *Journal of Clinical Investigation*. 2007;117(1):175-184.
10. DE CABO R, MATTSON M. Effects of Intermittent Fasting on Health, Aging, and Disease. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(26):2541-2551.
11. HERRERA-SILVA J, TREVIÑO-MOORE A, MEDINA-ROSALES H. Asociación entre marcadores de inflamación sistémica de bajo grado e índice de masa corporal en niños con cáncer en quimioterapia. 2008;65.
12. RICO-ROSILLO M, VEGA-ROBLEDO G. Nuevo rumbo en macrófagos, inflamación y tejido adiposo. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2012;50:39-45.
13. HANSEN K, SICKELMANN F, PIETROWSKY R, FEHM H, BORN J. Systemic immune changes following meal intake in humans. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 1997;273(2):R548-R553.
14. IZAOLA O, DE LUIS D, SAJOUX I, DOMINGO J, VIDAL M. Inflamación y obesidad (lipoinflamación). *Nutrición Hospitalaria*. 2015;31.

15. HERMSDORFF H, ÁNGELES ZULET M, BRESSAN J, ALFREDO MARTÍNEZ J. Efecto de la dieta en la inflamación crónica y de bajo grado relacionada con la obesidad y el síndrome metabólico. *Endocrinología y Nutrición*. 2008;55(9):409-419.
16. HERDER C, PELTONEN M, KOENIG W, KRÄFT I, MÜLLER-SCHOLZE S, MARTIN S et al. Systemic Immune Mediators and Lifestyle Changes in the Prevention of Type 2 Diabetes: Results From the Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetes*. 2006;55(8):2340-2346.
17. SPRANGER J, KROKE A, MÖHLIG M, HOFFMANN K, BERGMANN M, RISTOW M et al. Inflammatory Cytokines and the Risk to Develop Type 2 Diabetes: Results of the Prospective Population-Based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes*. 2003;52(3):812-817.
18. RUOTSALAINEN E, VAUHKONEN I, SALMENNIEMI U, PIHLAJAMÄKI J, PUNNONEN K, KAINULAINEN S et al. Markers of endothelial dysfunction and low-grade inflammation are associated in the offspring of type 2 diabetic subjects. *Atherosclerosis*. 2008;197(1):271-277.
19. IMAI Y, DOBRIAN A, WEAVER J, BUTCHER M, COLE B, GALKINA E et al. Interaction between cytokines and inflammatory cells in islet dysfunction, insulin resistance and vascular disease. *Diabetes, Obesity and Metabolism*. 2013;15(s3):117-129.
20. PÉREZ-BAUTISTA O, RAMÍREZ-VENEGAS A, ESCOBAR-ARRIAGA E, SANSORES R. Diferencias de marcadores de inflamación entre fumadores y no fumadores en una población mexicana. *Revista de Investigación Clínica*. 2009;61:205-211.

21. IKONOMIDIS I, LEKAKIS J, VAMVAKOU G, ANDREOTTI F, NIHOYANNOPOULOS P. Cigarette smoking is associated with increased circulating proinflammatory and procoagulant markers in patients with chronic coronary artery disease. *American Heart Journal*. 2005;149(5):832-839.

22. HERRERA M J. *Psiconeuroinmunología para la práctica clínica*. Cali, Colombia: Programa Editorial Universidad del Valle; 2009.

23. ERSHLER W, KELLER E. Age-Associated Increased Interleukin-6 Gene Expression, Late-Life Diseases, and Frailty. *Annual Review of Medicine*. 2000;51(1):245-270.

24. SHOJAIE M, GHANBARI F, SHOJAIE N. Intermittent fasting could ameliorate cognitive function against distress by regulation of inflammatory response pathway. *Journal of Advanced Research*. 2017;8(6):697-701.

25. MATTISON J, COLMAN R, BEASLEY T, ALLISON D, KEMNITZ J, ROTH G et al. Caloric restriction improves health and survival of rhesus monkeys. *Nature Communications*. 2017;8(1).

26. NENCIONI A, CAFFA I, CORTELLINO S, LONGO V. Fasting and cancer: molecular mechanisms and clinical application. *Nature Reviews Cancer*. 2018;18(11):707-719.

27. HARVIE M, HOWELL A. Energy restriction and the prevention of breast cancer. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2012;71(2):263-275.

28. MARTINEZ-OUTSCHOORM U, PEIRIS-PAGÉS M, PESTELL R, SOTGIA F, LISANTI M. Cancer metabolism: a therapeutic perspective. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2016;14(1):11-31.

29. ARNOLD S, ARVANITAKIS Z, MACAULEY-RAMBACH S, KOENING A, WANG H, AHIMA R et al. Brain insulin resistance in type 2 diabetes and Alzheimer disease: concepts and conundrums. *Nature Reviews Neurology*. 2018;14(3):168-181.

30. ROCHON J, BALES C, RAVUSSIN E, REDMAN L, HOLLOSZY J, RACETTE S et al. Design and Conduct of the CALERIE Study: Comprehensive Assessment of the Long-term Effects of Reducing Intake of Energy. *The Journals of Gerontology: Series A*. 2010;66A(1):97-108.

31. RAVUSSIN E, REDMAN L, ROCHON J, DAS S, FONTANA L, KRAUS W et al. A 2-Year Randomized Controlled Trial of Human Caloric Restriction: Feasibility and Effects on Predictors of Health Span and Longevity. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*. 2015;70(9):1097-1104.

32. HARVIE M, HOWELL A. Potential Benefits and Harms of Intermittent Energy Restriction and Intermittent Fasting Amongst Obese, Overweight and Normal Weight Subjects—A Narrative Review of Human and Animal Evidence. *Behavioral Sciences*. 2017;7(4):4.

33. FURMLI S, ELMASRY R, RAMOS M, FUNG J. Therapeutic use of intermittent fasting for people with type 2 diabetes as an alternative to insulin. *BMJ Case Reports*. 2018;:bcr-2017-221854.

34. SUTTON E, BEYL R, EARLY K, CEFALU W, RAVUSSIN E, PETERSON C. Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even without Weight Loss in Men with Prediabetes. *Cell Metabolism*. 2018;27(6):1212-1221.e3.

35. BALAS NAKASH M, PERICHART PERERA O, BENITEZ ARCINIEGA A, TOLENTINO DOLORES M, MIER CABRERA J, VADILLO ORTEGA F. Asociación entre adiposidad, inflamación y factores de riesgo cardiovascular en un grupo de escolares mexicanos. *Gaceta médica de México*. 2013;149(2):196-203.

36. MURRAY P, ALLEN J, BISWAS S, FISHER E, GILROY D, GOERDT S et al. Macrophage Activation and Polarization: Nomenclature and Experimental Guidelines. *Immunity*. 2014;41(1):14-20.

37. HOTAMISLIGIL G, ERBAY E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nature Reviews Immunology*. 2008;8(12):923-934.

38. BOLLI G, FEO P, COSMO S, PERRIELLO G, VENTURA M, CALCINARO F et al. Demonstration of a Dawn Phenomenon in Normal Human Volunteers. *Diabetes*. 1984;33(12):1150-1153.

39. ZENG W, PIRZGALSKA R, PEREIRA M, KUBASOVA N, BARATEIRO A, SEIXAS E et al. Sympathetic Neuro-adipose Connections Mediate Leptin-Driven Lipolysis. *Cell*. 2015;163(1):84-94.

40. NANDY D, JANARDHANAN R, MUKHOPADHYAY D, BASU A. Effect of Hyperglycemia on Human Monocyte Activation. *Journal of Investigative Medicine*. 2011;59(4):661-667.

41. GROSICK R, ALVARADO-VAZQUEZ P, MESSERSMITH A, ROMERO-SANDOVAL E. High glucose induces a priming effect in macrophages and exacerbates the production of pro-inflammatory cytokines after a challenge. *Journal of Pain Research*. 2018;Volume 11:1769-1778.

42. DIXIT V, YANG H, SAYEED K, STOTE K, RUMPLER W, BAER D et al. Controlled meal frequency without caloric restriction alters peripheral blood mononuclear cell cytokine production. *Journal of Inflammation*. 2011;8(1):6.

43. MOLZOF H, WIRTH M, BURCH J, SHIVAPPA N, HEBERT J, JOHNSON R et al. The impact of meal timing on cardiometabolic syndrome indicators in shift workers. *Chronobiology International*. 2017;34(3):337-348.

44. NAPOLITANO M, BRAVO E. Lipid metabolism and TNF-alpha secretion in response to dietary sterols in human monocyte derived macrophages. *European Journal of Clinical Investigation*. 2005;35(8):482-490.

45. JELLEMA A, PLAT J, MENSINK R. Weight reduction, but not a moderate intake of fish oil, lowers concentrations of inflammatory markers and PAI-1 antigen in obese men during the fasting and postprandial state. *European Journal of Clinical Investigation*. 2004;34(11):766-773.

46. PLAT J, JELLEMA A, RAMAKERS J, MENSINK R. Weight Loss, but Not Fish Oil Consumption, Improves Fasting and Postprandial Serum Lipids, Markers of Endothelial Function, and Inflammatory Signatures in Moderately Obese Men. *The Journal of Nutrition*. 2007;137(12):2635-2640.

47. MANNING P, SUTHERLAND W, MCGRATH M, DE JONG S, WALKER R, WILLIAMS M. Postprandial Cytokine Concentrations and Meal Composition in Obese and Lean Women. *Obesity*. 2008;16(9):2046-2052.

48. BLEAKLEY C, GLASGOW P, MACAULEY D. PRICE needs updating, should we call the POLICE?. *British Journal of Sports Medicine*. 2011;46(4):220-221.

49. EDWARDS J, SEDGWICK A, WILLOUGHBY D. The formation of a structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: An in vivo tissue culture system. *The Journal of Pathology*. 1981;134(2):147-156.

50. UNDERHILL D. Macrophage recognition of zymosan particles. *Journal of Endotoxin Research*. 2003;9(3):176-180.

51. HUTTUNEN R, SYRJÄNEN J. Obesity and the risk and outcome of infection. *International Journal of Obesity*. 2012;37(3):333-340.

52. HONCE R, KARLSSON E, WOHLGEMUTH N, ESTRADA L, MELIOPOULOS V, YAO J et al. Obesity-Related Microenvironment Promotes Emergence of Virulent Influenza Virus Strains. *mBio*. 2020;11(2).

53. ZHENG K, GAO F, WANG X, SUN Q, PAN K, WANG T et al. Obesity as a risk factor for greater severity of COVID-19 in patients with metabolic associated fatty liver disease. *Metabolism*. 2020;108:154244.

54. VIIKARI-JUNTURA E, SHIRI R, SOLOVIEVA S, KARPPINEN J, LEINO-ARJAS P, VARONEN H et al. Risk factors of atherosclerosis and shoulder pain - Is there an association? A systematic review. *European Journal of Pain*. 2008;12(4):412-426.

55. GAO F, LV T, ZHOU J, QIN X. Effects of obesity on the healing of bone fracture in mice. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*. 2018;13(1).

56. PONOMARENKO A, KOROTKOVA T. Hunger is a gatekeeper of pain in the brain. *Nature*. 2018;556(7702):445-446.

57. NAVARRETE REYES A, MONTAÑA ALVAREZ M. Inflammaging. Envejecimiento de origen inflamatorio. *Revista de Investigación Clínica*. 2009;61:327-336.

58. ESCATE CHÁVEZ O. Efectos de la hipercolesterolemia sobre monocitos/macrófagos y la inmunidad innata. 2016.

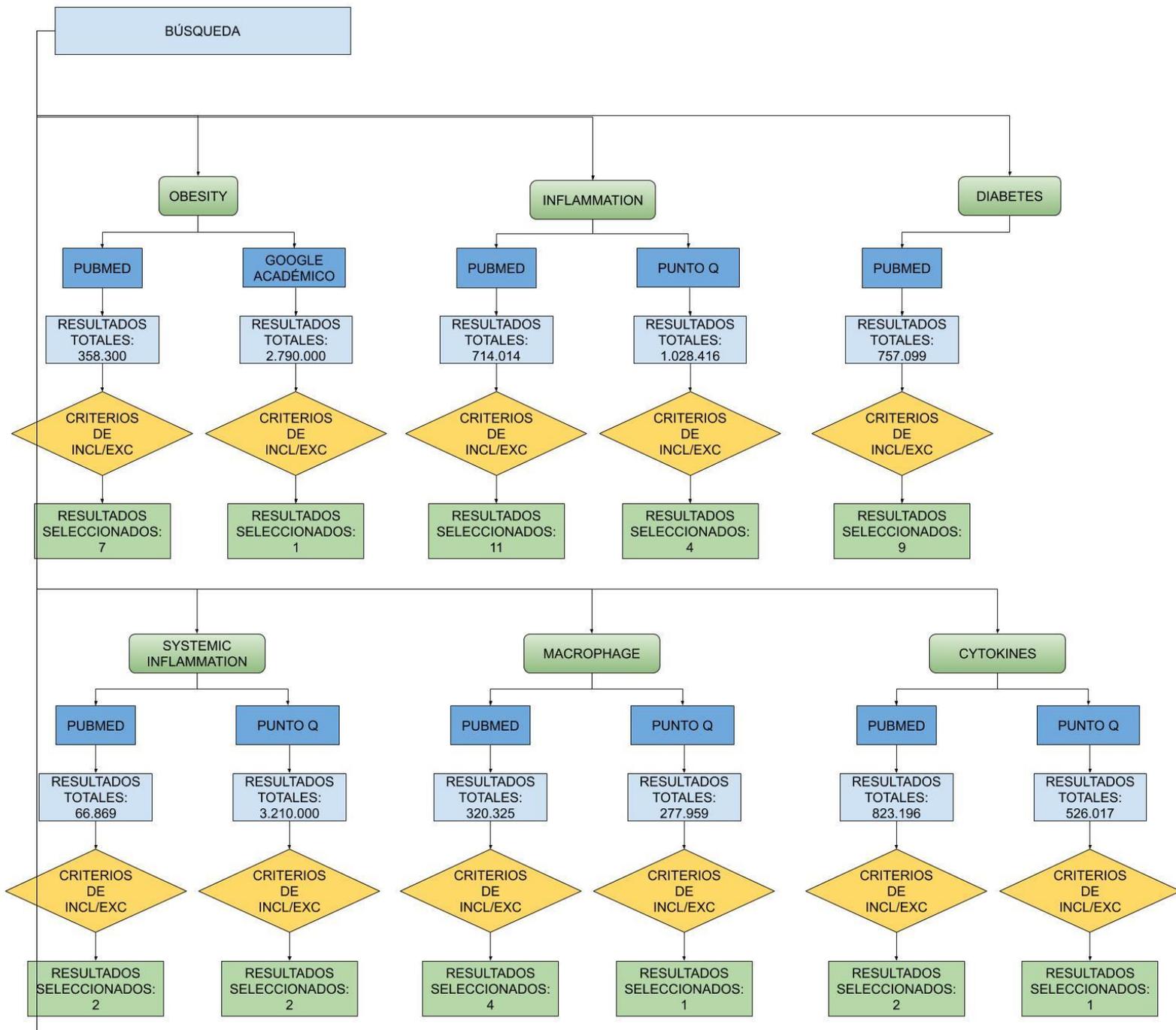
59. EZQUERRO S, FRÜHBECK G, RODRÍGUEZ A. El tejido adiposo, protagonista en las alteraciones metabólicas de la obesidad. *Revista Bioquímica de la obesidad*.

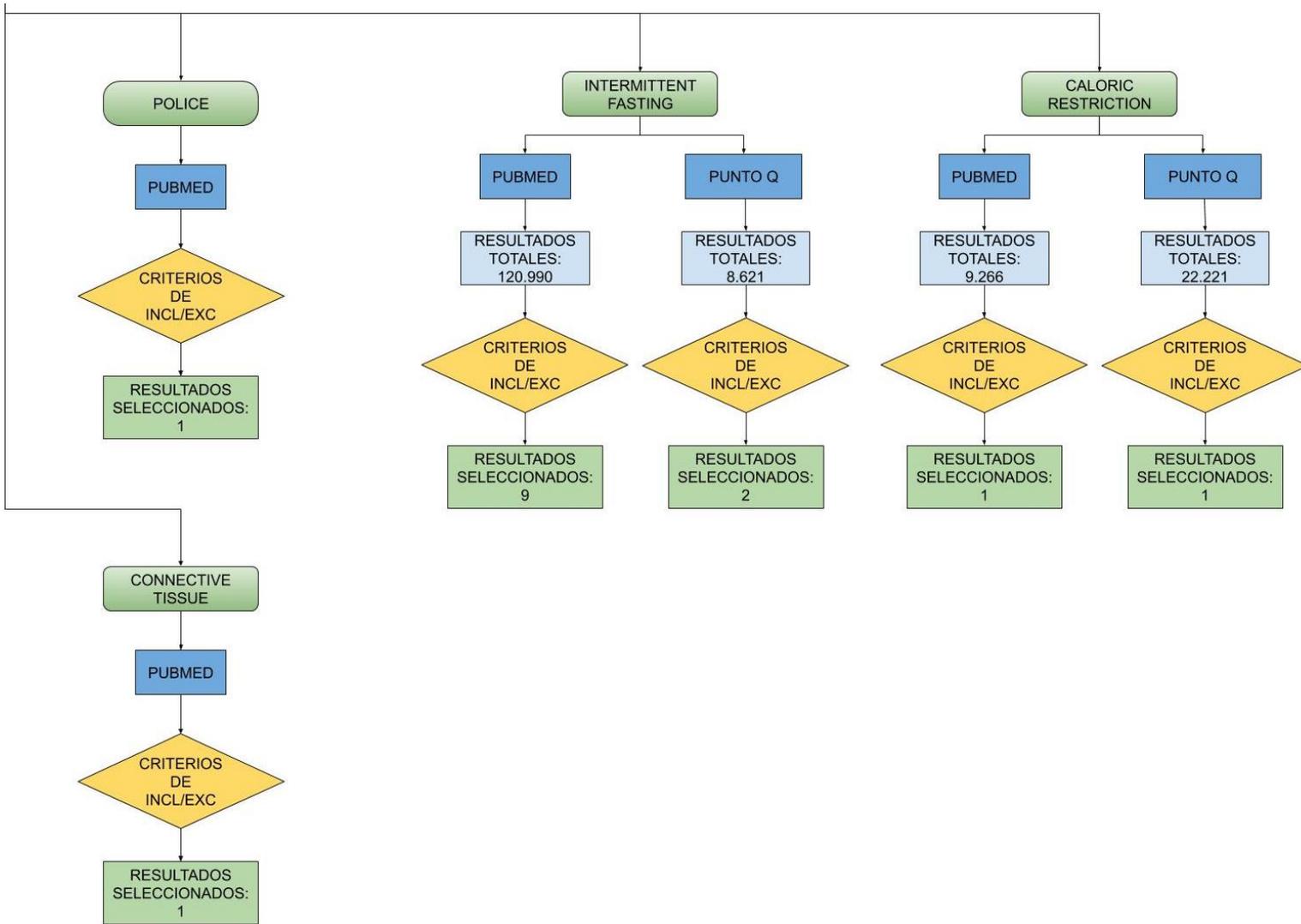
60. KWON Y, KIM H, HAM T, YOON S, ROH D, HAN H et al. The anti-Inflammatory Effect of Bee Venom Stimulation in a Mouse Air Pouch Model Is Mediated by Adrenal Medullary Activity. *Journal of Neuroendocrinology*. 2003;15:93-96.

10.ANEXOS

Índice de Figuras:

Figura 2. Diagrama de flujo





Indice de tablas:

Tabla 1. Diagrama de Gantt

