



Universidad de Navarra

Facultad de Medicina

TESIS DOCTORAL

**“MODULACION DE LA SARCOPENIA A TRAVÉS
DEL EJERCICIO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON
L-CITRULINA”**

JORGE PASCUAL FERNÁNDEZ

Pamplona 2021



Universidad de Navarra

Facultad de Medicina

TESIS DOCTORAL

**“MODULACION DE LA SARCOPENIA A TRAVÉS
DEL EJERCICIO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON
L-CITRULINA”**

Memoria presentada por D. Jorge Pascual Fernández para obtener
el Grado de Doctor por la Universidad de Navarra

Fdo. Jorge Pascual Fernández



Universidad de Navarra

Facultad de Medicina

Pamplona, 26 de abril de 2021

D. Alejandro Fernández Montero, Profesor Contratado Doctor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Navarra, hace constar que:

EL trabajo "MODULACION DE LA SARCOPENIA A TRAVÉS DEL EJERCICIO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON L-CITRULINA", presentado por D. Jorge Pascual Fernández, ha sido realizado bajo mi dirección en la Universidad de Navarra. Una vez revisado, autorizo su presentación ante el Tribunal correspondiente que lo ha de juzgar.

Y, para que así conste, firma el presente informe en Pamplona a 26 de Abril de 2021.

Fdo. Dr. Alejandro Fernández Montero
Prof. Contr. Doc. de la
Universidad de Navarra



Universidad de Valladolid
Dpto. Bioquímica, Biología molecular y Fisiología
Facultad de Ciencias de la Salud



Dpto. Bioquímica, Biología molecular y Fisiología

Prof. Dr. Alfredo Córdova Martínez, Catedrático de Fisiología en la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Valladolid, hace constar que el trabajo presentado por D. Jorge Pascual Fernández, titulado: “MODULACION DE LA SARCOPENIA A TRAVÉS DEL EJERCICIO Y LA SUPLEMENTACIÓN CON L-CITRULINA”, ha sido realizado bajo mi dirección.

La tesis doctoral es en un trabajo original de investigación que, tras analizarlo y revisarlo, cumple con los requisitos científicos y formales establecidos por la Universidad de Navarra, por lo cual, autorizo su presentación ante el Tribunal correspondiente que lo ha de juzgar.

Y, para que así conste, firma el presente informe en Soria a 26 de abril de 2021

Fdo. Prof. Dr. Alfredo Córdova Martínez
Universidad de Valladolid

Dedicatoria

A mis padres, a mi hermana y a Ainhoa.

A todas las personas que han
contribuido para lograr llevar a término este trabajo

“Las cosas grandes se hacen con pequeños detalles”

ACM

*“Aunque dicen que el saber no ocupa lugar, la sabiduría hace libres y
humildes a los hombres”*

ACM

Nuestra recompensa se encuentra en el esfuerzo y no en el resultado.

Un esfuerzo total es una victoria completa.

(Mahatma Gandhi)

AGRADECIMIENTOS

Dice un refrán que “de bien nacidos es ser agradecido”. Soy una persona que tiene mucho que agradecer a mucha gente que me han ayudado a llegar a este momento. Intentaré ser breve y no olvidarme de nadie.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas e Instituciones que, de alguna manera, me han ayudado a realizar y poder presentar este trabajo de Tesis Doctoral.

Tengo que agradecer a la Facultad de Medicina y a la Universidad de Navarra, por su excelente aportación en lo académico, pero especialmente por enseñarme a dirigir la práctica de la medicina a un plano superior al terapéutico, centrado en la ayuda al paciente y sus circunstancias. Gracias por brindarme el honor de llevar a cabo este trabajo de tesis doctoral bajo su amparo.

A mi director de tesis doctoral, Alejandro Fernández Montero, por haber confiado en este proyecto desde el principio, haberme guiado con sus conocimientos y por saber motivarme para seguir adelante en este proceso superando los múltiples obstáculos presentados.

A mi codirector de la tesis doctoral, Alfredo Córdova Martínez, por su apoyo incondicional, por haber sido la semilla y el catalizador de este proyecto y haber seguido a diario su desarrollo. Por haberme iniciado en la investigación desde mi etapa de estudiante, teniéndome siempre en cuenta y por saber transmitir su entusiasmo y conocimiento en esta área. Destacar su apoyo tanto en lo profesional como en lo personal.

Al Dpto. Bioquímica, Biología molecular y Fisiología de la Facultad de ciencias de la salud de Soria (Dr. Córdova y Dr. Juan Mielgo) por haberme

abierto sus puertas, y facilitado toda la infraestructura necesaria, para poder desarrollar el trabajo que presento.

Al Excmo. Ayuntamiento de Soria que nos ha permitido acceder a sus instalaciones sin ningún tipo de obstáculo permitiéndonos realizar todas las actividades deportivas, valoraciones físicas y pruebas biomédicas. Sin su buena predisposición y apoyo, hubiera sido muy difícil llevar a cabo este estudio.

Gracias a mi familia, por su apoyo incondicional, por su colaboración, por su estímulo constante, por haberme dado una buena formación y por el cariño que me demuestran cada día.

Gracias a Ainhoa por estar siempre al “pie del cañón” dispuesta a prestar ayuda y hacerme afrontar los contratiempos surgidos de forma positiva viendo oportunidades en lugar de obstáculos.

A las enfermeras que me ayudaron en las tomas de muestras, mi tía “Merce” y Ainhoa.

Al I.E.S. Virgen del Espino de Soria, profesores y alumnos del TAFAD, por su colaboración en la realización de test de aptitud física de los participantes.

Y, por último, un especial agradecimiento a todos los voluntarios participantes en el estudio por su colaboración y su comprensión en todo momento.

Gracias a todos.

PROLOGO

A lo largo de nuestra vida, el cuerpo humano se dirige hacia una evolución fisiológica caracterizada por una serie de adaptaciones que conducen a una variedad de consecuencias sobre su salud y el estado funcional de los Adultos Mayores. Todo ello condiciona la calidad de vida, que cuando esta evolución fisiológica se ve alterada, puede condicionar la presencia de patologías, representando con ello un alto costo para el sistema de salud.

Por tanto, no es de extrañar que cada día aumenta, casi exponencialmente, el número de investigaciones para el estudio de este grupo de edad.

Un síndrome geriátrico que ha tomado gran relevancia en los últimos años es la sarcopenia que de forma genérica la podríamos definir “como la reducción de masa y fuerza del músculo que acompañan al envejecimiento, que conduce a la pérdida de fuerza y capacidad para realizar movimientos, entrando en juego la fragilidad y posteriormente la dependencia”.

Diagnosticar la sarcopenia a edades tempranas es de gran importancia pues implica la intervención oportuna para garantizar una atención multidisciplinaria que permita prevenir, modular y evitar (en la medida de lo posible) el proceso fisiológico evolutivo que conduce a la sarcopenia.

En este trabajo, el doctorando, que ha contado con personal de apoyo técnico y científico de primer nivel, nos da una visión clara de los medios de valoración. Además, ha introducido un elemento de intervención, la citrulina,

como factor que pudiera retrasar y modular el proceso de envejecimiento, es decir, el proceso de la sarcopenia.

El doctorando presenta unos resultados muy interesantes que pueden constituir un elemento clave a la hora de enfocar los programas de actividad física para mejorar las cualidades físicas de este grupo poblacional, y ayudar a mejorar su calidad de vida.

Prof. Alfredo Córdova Martínez
Catedrático de Fisiología

INDICE GENERAL

INDICE

INDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. SARCOPENIA.....	3
II.1. Clasificación.....	8
II.2. Etiología de la sarcopenia.....	10
II.3. Sarcopenia y factores relacionados con la edad.....	11
II.3.1. Influencia genética.....	12
II.3.2. Células satélite.....	12
II.3.3. Obesidad.....	14
II.3.4. Degeneración mitocondrial.....	14
II.3.5. Estrés oxidativo.....	17
II.3.6. La atrofia muscular.....	18
II.3.6.1. Vías de señalización de degradación de proteínas.....	21
II.3.7. Apoptosis.....	23
II.3.8. Factores endocrinos.....	24
II.3.9. Factores neurodegenerativos.....	27
II.3.10. Inflamación.....	28
II.3.11. Desnutrición.....	32
II.3.12. Desuso.....	33
II.4. Diagnóstico de la sarcopenia.....	34
II.4.1. Criterios para el diagnóstico.....	34
III. MEDICIÓN DE LOS PARAMETROS.....	35
III.1. Fuerza.....	35
III.2. Calidad muscular.....	37
III.3. Rendimiento físico.....	39
III.4. Otras alternativas.....	40
IV. ÓXIDO NÍTRICO (NO) – CITRULINA.....	42

IV. 1. Óxido Nítrico.....	42
IV.2. Producción de ROS y NO en el músculo esquelético en actividad contráctil.....	44
IV.3. Ciclo de la urea.....	47
IV.4. Las células satélite.....	48
V. CITRULINA.....	49
VI.1. Metabolismo de la citrulina.....	50
V.2. Sarcopenia y citrulina.....	52
V.3. Citrulina (CIT) y rendimiento físico.....	54
VI. HIPOTESIS DE TRABAJO.....	59
VII. OBJETIVOS.....	63
VII.1. Generales.....	63
VII.2. Específicos.....	63
VIII. MATERIAL Y METODOS.....	67
VIII.1. Características de la muestra.....	67
VIII.2. Criterios de inclusión.....	70
VIII.3. Criterios de exclusión.....	70
VIII.4. Diseño de la investigación.....	71
VIII.5.Toma de suplementos.....	73
VIII.6. Procedimiento de recogida de datos.....	74
VIII.7. Parámetros antropométricos.....	74
VIII.7.1. Antropometría.....	74
VIII.7.2. Parámetros de aptitud física.....	76
VIII.7.3. Valoración de la actividad física diaria, hábitos nutricionales y calidad de vida.....	80
VIII.7.4. Valoración de los hábitos nutricionales.....	81
VIII.7.5. Valoración de la calidad de vida.....	81
VIII.7.6. Pruebas analíticas.....	82
VIII.7.7. Pruebas estadísticas a utilizar (programa estadístico).....	84

INDICE

IX. RESULTADOS.....	89
IX.1. Características de los participantes.....	90
IX.2. Valores de hematología hierro y ferritina.....	90
IX.3. Resultados referidos a bioquímica general.....	94
IX.4. Resultados de parámetros relacionados con enzimas musculares... 98	
IX.5. Resultados de parámetros hormonales.....	100
IX.6. Resultados de pruebas de aptitud física.....	102
IX.7. Resultados de valoración de la salud.....	106
X. DISCUSIÓN.....	111
X.1. Ejercicio físico.....	116
X.2. Resistencia.....	117
X.3. Fuerza.....	117
X.4. Velocidad de marcha.....	119
X.5. Hematología.....	120
X.6. Bioquímica: perfil lipídico.....	121
X.7. Enzimas musculares.....	122
X.8. Hormonas.....	124
X.8.1. Testosterona/cortisol.....	124
X.9. Análisis de indicadores de salud.....	126
X.10. Análisis del ejercicio.....	127
X.11. Propuestas prácticas.....	128
X.12. Debilidades y fortalezas.....	130
X.12.1. Debilidades.....	130
X.12.2. Fortalezas.....	132
XI. CONCLUSIONES.....	135
XII. ANEXOS.....	139
ANEXO I: Documento de consentimiento informado.....	139
ANEXO II: Información y consentimiento informado.....	141
ANEXO III: Cuestionario de actividad física.....	146

ANEXO IV: Cuestionario internacional de actividad física (IPAQ).....	148
ANEXO V: Cuestionario Predimed.....	150
ANEXO VI: Calendario de alimentación.....	152
ANEXO VII: Indicadores de bienestar.....	156
XIII. BIBLIOGRAFIA.....	163

INDICE DE TABLAS

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Previsión número de personas mayores de 65 años entre 2019 y 2050.....	2
Tabla 2. Técnicas para a valoración muscular (CT, RM, BIA).....	5
Tabla 3. Valores referidos en el diagnóstico de la sarcopenia en función de la masa muscular.....	6
Tabla 4. Etiología de la sarcopenia, relación con la edad, la enfermedad, la inactividad y la malnutrición.....	11
Tabla 5. Relación de genes con influencia sobre la masa/fuerza muscular y desarrollo de la sarcopenia.....	13
Tabla 6. Herramientas diagnósticas de sarcopenia, para la medición de fuerza muscular, masa muscular y rendimiento físico.....	36
Tabla 7. Pruebas físicas más utilizadas en la práctica clínica y en la investigación científica.....	39
Tabla 8. Características antropométricas de los sujetos estudiados.....	67
Tabla 9. Composición grasa, presión arterial y frecuencia cardiaca.....	67
Tabla 10. Distribución de las sesiones de actividad física.....	72
Tabla 11. Parámetros hormonales y hematológicos.....	83
Tabla 12. Edad y sexo.....	90
Tabla 13. Valores basales hematología, hierro y ferritina.	90
Tabla 14. Valores de hematología, hierro y ferritina post intervención.....	91
Tabla 15. Resultados diferenciales de hematología, hierro y ferritina.	92
Tabla 16. Valores basales de bioquímica general.....	94
Tabla 17. Valores de bioquímica general y salud post intervención.....	95
Tabla 18. Resultados diferencial de bioquímica general.....	97
Tabla 19. Valores basales relacionados con enzimas musculares.....	98
Tabla 20. Valores de parámetros de enzimas musculares post Intervención.....	98
Tabla 21. Resultados diferencial de parámetros de enzimas musculares.....	99
Tabla 22. Parámetros basales hormonales.....	100
Tabla 23. Valores de parámetros hormonales post intervención.....	100

Tabla 24. Resultados diferencial de parámetros hormonales.....	101
Tabla 25. Valores basales pruebas físicas.....	102
Tabla 26. Valores de pruebas físicas post intervención.....	103
Tabla 27. Resultados diferencial de pruebas físicas.....	104
Tabla 28. Parámetros basales de indicadores de salud.....	106
Tabla 29. Valores de indicadores de salud post intervención.....	106
Tabla 30. Resultados diferencial de indicadores de salud.....	107
Tabla 31. Distribución del tiempo de trabajo para el entrenamiento.....	129

INDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Causas más habituales de la sarcopenia. Modificado de EWGSOP.....	10
Figura 2. Complejos de la ETC, Coq o Ubiquinona (UQ).....	16
Figura 3. Vías de activación y estímulos que intervienen en la señalización Mtor.....	21
Figura 4. Biosíntesis del óxido nítrico.....	42
Figura 5. Mecanismos de desgaste muscular inducido por iNOS.....	46
Figura 6. Ciclo de la urea.....	47
Figura 7. Afluencia de iones de Ca y su unión a calmodulina.....	49
Figura 8. Vías metabólicas de l-arginina y l-citrulina.....	52
Figura 9. Evolución de la población de la provincia de Soria de 1900 a 2018.	68
Figura 10. Pirámide poblacional de Soria.....	69
Figura 11. Medición antropométrica con báscula de bioimpedancia.....	75
Figura 12. Toma de tensión arterial con esfigmomanómetro digital.....	75
Figura 13. Dinamómetro manual para la medida de la fuerza.....	77
Figura 14. Células fotoeléctricas para cronometraje velocidad de desplazamiento.....	77
Figura 15. Test de equilibrio.....	79
Figura 16. Recogida de datos de encuestas.....	81
Figura 17. Recogida de sangre.....	83
Figura 18. Niveles de colesterol total, placebo vs citrulina tras intervención.....	96
Figura 19. Parámetros hormonales.....	101
Figura 20. Efectos de la testosterona.....	125

ABREVIATURAS

Relación de Abreviaturas:

ACTN3:	Actina alfa 3.
ADNmt:	ADN mitocondrial.
Age-1:	Gen Ageing alteration.
Akt:	Proteína quinasa B o serina treonina quinasa.
AMPK:	Proteína quinasa activada por AMP.
AP1:	Proteína activadora 1.
ARE:	Adenilate/Uridilate rich elements.
ARNmt:	ARN mitocondrial.
ASL:	argininosuccinato liasa.
ASM:	Músculo esquelético apendicular.
ASS1:	Argininosuccinato sintasa.
ATP:	Adenosín trifosfato.
BDNF:	Factor neurotrópico derivado del cerebro.
BIA:	Impedancia bioeléctrica.
BMI:	Índice de masa corporal
Ca ⁺⁺ :	Ion Calcio.
Ca-CaM:	Calmodulina + Ca.
CAT:	Catalasa.

CDKN1A:	Quinasa dependiente de ciclina 1 ^a .
CEIC:	Comité de Ética de Investigación Clínica.
CK:	Creatín quinasa.
CM:	Malato de citrulina.
CNTF- A:	Gen del factor neurotrófico ciliar.
CoQ:	<i>Coenzima Q.</i>
CS:	Células satélite.
Cyt c:	Citocromo C.
Daf2:	Gen Abnormal Dauer formation.
DGC:	Complejo distrofina-glicoproteína.
DS:	Desviación estándar.
DXA:	Absorcimetría de rayos X de energía dual.
ECA:	Enzima convertidora de angiotensina.
eEF2:	Factor de alargamiento eucariota 2.
eNOS:	Óxido nítrico sintasa endotelial.
EPOC:	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
ETC:	Cadena de transporte de electrones.
EWGSOP:	The European Working Group on Sarcopenia in Older People.
FC:	Frecuencia cardíaca.
FGF:	Factores de crecimiento de fibroblastos.

ABREVIATURAS

FoxO:	Factor de transcripción forkhead-O.
GDF8:	Factor de crecimiento-diferenciación de genes 8.
GH:	Hormona del crecimiento.
GMP:	Guanosín monofosfato.
GOT:	Aspartato aminotransferasa
GPT:	Alanina aminotransferasa
GPX:	Glutación peroxidasa.
HDL:	Lipoproteína de alta densidad.
HGF:	Factor de crecimiento de hepatocitos.
HuR:	Antígeno humano R.
IGF-1:	Factor de crecimiento insulínico.
IKB:	Proteínas inhibidoras de NF-KB
IKK β :	I κ B quinasa tipo β .
IL-1:	Interleucina 1.
IL-6:	Interleucina 6.
IMC:	Índice de masa corporal.
IMCL:	Lípidos intramiocelulares.
IMM:	Membrana mitocondrial interna.
iNOS:	Óxido nítrico sintasa inducible.
Jun-D:	Factor transcripción JunD. (Proteína codificada por el gen JunD).

L3:	3 ^a vértebra lumbar.
L-ARG:	L- Arginina.
L-CIT:	L- Citrulina.
LDL:	Lipoproteína de baja densidad.
MAP:	Médico de atención primaria.
METS:	Equivalente metabólico.
MHC:	Cadena pesada de miosina.
MME:	Masa de músculo esquelético
MPS:	Síntesis de proteínas musculares.
MSTN:	Miostatina.
mTOR:	Blanco de la rapamicina en los mamíferos.
MuRF-1:	Proteínas RING finger. (Proteínas del dedo anular).
MyoD1:	Antígeno de diferenciación miogénica 1.
<i>NADH:</i>	<i>Nicotamida adenina dinucleotido.</i>
NADP:	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, oxidada.
NADPH:	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, reducida.
NF-κB:	Factor de transcripción nuclear kappaB.
NH ₃ :	Amoniaco.
nNOS:	Óxido nítrico sintasa neural.
NO:	Óxido nítrico.
NOS:	Óxido nítrico sintasa.

ABREVIATURAS

OMS:	Organización Mundial de la Salud.
ONOO:	Peroxinitrito.
PCR:	Proteína C reactiva.
PD:	Presión diastólica.
PDGF-BB:	Factor de crecimiento de las plaquetas BB.
PI3K:	Enzima fosfoinositol 3-quinasa o fosfoinositida-3-quinasa.
PREDIMED:	Predicador de la adhesión a la dieta mediterránea.
PS:	Presión sistólica.
R577X:	Genotipo de la actina alfa 3.
Rheb:	Gen de la Superfamilia Ras de proteínas G.
RMN:	Resonancia magnética.
RNS:	Sustancias reactivas de nitrógeno.
ROS:	Sustancias reactivas de oxígeno.
Rps6:	Fosfo p S6.
S6K1:	Gen activado por mTOR;
SARC-F:	Cuestionario valoración de la sarcopenia.
SMI:	Sección de músculo esquelético.
SOD:	Superoxido dismutasa.
SPPB:	Batería corta de condición física.
STAT3:	Transductor de señal y activador de transcripción-3.

TC:	Tomografía computerizada.
TNF α :	Factor de necrosis tumoral alfa.
TSC1-2:	Complejos de esclerosis tuberosa.
TUG:	Timed-up-and-go-test.
TYG:	Índice triglicéridos glucosa.
UPS:	Ubiquitina-proteosoma.
UQ:	<i>Ubiquinona.</i>
VDR:	Receptor de vitamina D.

INTRODUCCIÓN

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define el envejecimiento como: “la consecuencia de la acumulación de una gran variedad de daños moleculares y celulares a lo largo del tiempo, lo que lleva a un descenso gradual de las capacidades físicas y mentales, un aumento del riesgo de enfermedad, y finalmente la muerte” (1).

En personas sedentarias, a partir de los 30 años comienza un proceso de reducción del nivel de fuerza que puede ir acompañado con una disminución de la masa muscular, lo que se acompaña de un aumento del peso corporal como consecuencia del incremento de la masa grasa. Estos cambios y otros a nivel molecular se van sumando con el paso de los años, culminando en el proceso de envejecimiento que se hace más evidente a nivel funcional (2).

Las enfermedades relacionadas con la edad cada vez son más estudiadas y tenidas en cuenta, dada la importancia que tienen para la salud. La mejora del nivel de vida, acompañada del desarrollo de los cuidados sanitarios, el control de las infecciones y otras estrategias de promoción de la salud, ha aumentado la esperanza de vida y han invertido la pirámide poblacional pasando de una población dominante joven a una con predominio de personas de edad avanzada (1-3).

En el año 2000 se estimó que el número de personas, en todo el mundo, con edades de más de 60 años, era de unos 600 millones. Para el año 2025 se espera que esta cifra se doble y que para 2050 se alcancen los 2000 millones (4). Estas cifras ponen de manifiesto el coste económico tan elevado que supone para los sistemas sanitarios de los diferentes Estados (5).

Actualmente en España un 17 % de la población es mayor de 65 años, aproximadamente unos 7 millones de personas, de las que un 25 % tienen más de 80 años, (Instituto Nacional de Estadística-INE). Se estima que en 2050 las personas mayores de 65 años estarán por encima del 30 % de la población, casi 13 millones y los octogenarios superarían los 4 millones (3).

(Tabla 1)

Tabla 1. Número de personas mayores de 65 años en diferentes regiones entre 2019 y 2050 (3).

Número de personas mayores de 65 años por regiones geográficas, entre 2019 y 2050			
Región	Número de personas mayores de 65 años 2019 (Millones)	Número de personas mayores de 65 años 2050 (Millones)	Cambio en porcentaje 2019-2050
Todo el Mundo	702.9	1548.9	120
África subsahariana	31.9	101.4	218
Norte de África y Oeste de Asia	29.4	95.8	226
Asia Central y Sur	119.0	328.1	176
Asia Este y Sureste	260.6	572.5	120
Latinoamérica y Caribe	56.4	144.6	156
Australia (AU) y Nueva Zelanda (NZ)	4.8	8.8	84
Oceanía (sin AU y N Z)	0.5	1.5	190
Europa y Norteamérica	200.4	296.2	48

Fuente: Naciones Unidas, departamento de Economía y Asuntos sociales. División de población 2019.

El envejecimiento produce una serie de cambios en la composición corporal que repercuten en la funcionalidad, afectando a las actividades cotidianas y por tanto al bienestar y a la calidad de vida e independencia de los mayores. En general, el envejecimiento va tener una mayor repercusión sobre los miembros inferiores especialmente sobre los músculos extensores que sobre los flexores (6). Además, lleva consigo una pérdida de masa muscular, asociada a una disminución de la función motriz y una disminución de la fuerza muscular. Se produce un deterioro progresivo que predispone a sufrir lesiones debilitantes (7).

El deterioro comienza a partir de la quinta década de la vida y la pérdida muscular se estima en un 0.8 % por año aproximadamente (8). El desgaste muscular es consecuencia de la atrofia muscular y la muerte de células musculares, con la consiguiente pérdida de fuerza y masa muscular (9, 10). La causa de estas manifestaciones es una alteración de la síntesis de proteínas y su degradación (2, 11). También se produce una reducción de la sección transversal de la fibra, como consecuencia de la pérdida de la unidad motora y del deterioro de las fibras musculares (12, 13).

II.SARCOPENIA

El término sarcopenia fue definido por primera vez por Irwin Rosenberg para describir una disminución de la masa muscular relacionada con la edad (14, 15). A partir de ese momento la sarcopenia se ha definido como *“una pérdida de masa y de fuerza del músculo esquelético relacionada con la edad”*.

El conjunto de síntomas que aparecen en estados de sarcopenia, pueden ser definidos como un “síndrome geriátrico” pues hay interacciones de múltiples enfermedades que afectan a muchos sistemas y que tienen que ver con la edad. Por ello sería conveniente y útil reconocer a la sarcopenia como un síndrome geriátrico (16, 17).

La prevalencia de la sarcopenia va a depender de manera sustancial del impacto medible y de la forma de definirla. Una buena definición será la base para el diagnóstico clínico adecuado y para ajustar un buen tratamiento que resuelva los problemas de los enfermos, causados por esta enfermedad. Se han propuesto diversos modelos etiológicos, desde efectos metabólicos a reducciones de la producción hormonal anabólica, influencia de procesos inflamatorios, etc. (18).

Las distintas definiciones de sarcopenia se han ido complementando de acuerdo a las investigaciones y se han basado en diferentes criterios, que tienen que ver con la masa de músculo esquelético (MME). Para ello, se han basado en mediciones de la sección o de la cantidad total de músculo. Se han utilizado sistemas de medición que van desde algunos muy simples, accesibles y baratos a otros más complicados y menos disponibles para la mayoría de los pacientes. Entre ellos destacan la Absorcimetría de rayos X de energía dual (DXA), antropometría y análisis por impedancia bioeléctrica (BIA), la resonancia magnética (RMN), la tomografía computerizada (TC) y la excreción de creatinina. (Tabla 2)

Tabla 2: Técnicas para la valoración muscular. Tomografía computerizada. Resonancia magnética. Análisis de impedancia bioeléctrica. Absorciometría de rayos X de energía dual. Batería corta test de rendimiento físico.

Método de medida	Parámetro	Valoración
Tamaño del músculo		
DXA scan	Masa total de músculo	Sensible, baja radiación
BIA	Conductibilidad	Menor sensibilidad que DXA
TC	Sección muscular transversal	Radiación, cara
RMN	Sección muscular transversal	Accesibilidad
Condición física		
SPPB	Medida de fuerza de piernas	Validado para mayores

TC: tomografía computerizada; RMN: resonancia magnética; BIA: análisis de impedancia bioeléctrica; DXA: absorciometría de rayos X de energía dual; SPPB: batería corta test de rendimiento físico.

Los primeros autores en utilizar la (DXA) para la definición de la sarcopenia fueron Baumgartner et al. (19). Esta técnica se usa para analizar la composición corporal y en especial para determinar la densidad mineral ósea. Se mide la masa de músculo esquelético apendicular (ASM) utilizando la masa sin hueso y sin grasa de brazos y piernas. La ASM se dividió por la altura al cuadrado para relacionar la asociación de ASM con la talla, pues tiene gran importancia su relación a la hora de ajustar los resultados. En base

a ello se define la sarcopenia como la reducción de ASM/altura² en dos desviaciones estándar (DS) con respecto al grupo de referencia joven (4).

Por su parte, Janssen et al. (20) utilizaron la BIA como medio de valoración de la sección de músculo esquelético (SMI), utilizando la fórmula:

$$\% \text{ de SMI total en Kg} / \text{Peso en Kg} \times 100$$

De la misma forma consideraron sarcopenia a la reducción de dos desviaciones estándar (DS) con respecto al grupo de referencia joven (21). (Tabla 3)

Tabla 3: Valores establecidos por los autores referidos en el diagnóstico de la sarcopenia en función de la masa muscular. (21)

	Baumgartner (19)	Janssen (20)
Mujeres (Kg/m ²)	5.45	5.76
Hombres (Kg/m ²)	7.26	8.51

Newman et al. (22) desarrollaron un método, que utiliza el ASM medido y el predictor de ASM calculado por análisis de regresión lineal en el que se relaciona ASM como variable dependiente, la edad, la altura y la masa grasa total como variables independientes. Si el residuo resulta positivo, corresponde a un individuo musculoso o con un estado saludable, mientras que si es negativo se puede pensar que está en un nivel determinado de sarcopenia (22, 23).

Otro criterio utilizado para definir la sarcopenia, tiene que ver con la funcionalidad, entidad que se ve directamente relacionada con la fuerza muscular. En este sentido, podemos decir que, a pesar de la dependencia de ambos, no existe una relación lineal entre masa muscular y fuerza desarrollada. A partir de la definición inicial de “*perdida de músculo esquelético relacionada con la edad*”, las nuevas definiciones fueron acercándose a posturas más relacionadas con la funcionalidad, en las que se tiene en cuenta tanto la cantidad de músculo como la calidad (24).

El grupo “*The European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP)*” propuso la utilización de un algoritmo asociado a la pérdida de la velocidad de marcha, estableciendo el umbral en ≤ 0.8 m/s y la baja fuerza de agarre utilizando el cuartil más bajo de la distribución de la muestra (9, 19).

El EWGSOP define la sarcopenia como “*un síndrome caracterizado por una pérdida progresiva y generalizada de la masa y la fuerza del músculo esquelético con un riesgo de resultados adversos como discapacidad física, mala calidad de vida y muerte*” (25, 26). Además, aconseja usar tres criterios claves, para su diagnóstico a tres niveles:

- a) Fisiológico, la disminución de la masa muscular
- b) Funcional, la disminución de la fuerza y en términos de relación personal.
- c) Autonomía o la mala calidad de vida.

Otros grupos de investigadores han definido la sarcopenia en función de las diferencias de masa muscular con respecto a un grupo de referencia, que en general se asigna a una edad en torno a los 35 años. De esta manera

se asignan unas desviaciones estándar con respecto a la masa muscular de los jóvenes de referencia (4).

En el congreso de Roma de la EWGSOP (18 de noviembre de 2009) se llegó al consenso de definirla como: *“la pérdida asociada a la edad de la masa y función del músculo esquelético. La sarcopenia es un síndrome complejo que se asocia con la pérdida de masa muscular sola o junto con un aumento de la masa grasa. Las causas de la sarcopenia son multifactoriales y pueden incluir desuso, cambios en la función endocrina, enfermedades crónicas, inflamación, resistencia a la insulina y deficiencias nutricionales. Si bien la caquexia puede ser un componente de la sarcopenia, las dos condiciones no son las mismas”* (10).

También se consensó que se deberían evaluar desde el estamento médico a todas las personas mayores que presentaran signos de debilidad, pérdida de peso significativa, disminución del funcionamiento físico, así como antecedentes de caídas múltiples y afecciones crónicas compatibles con pérdida de masa muscular.

De acuerdo con el algoritmo desarrollado por el EWGSOP, la sarcopenia se definiría como tener baja masa magra y baja fuerza muscular o baja velocidad de marcha (10).

II. 1. Clasificación

La sarcopenia se ha asociado fundamentalmente al envejecimiento, pero también se encuentran casos en los que el comienzo de la sarcopenia aparece en edades tempranas. La asociación de esta enfermedad con otras

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

causas independientes de la edad hace que resulte útil en la práctica clínica una clasificación (27):

a) *Sarcopenia primaria.*

Cuando no existen causas diferentes a las relacionadas con la edad, que justifiquen la aparición de la enfermedad,

b) *Sarcopenia secundaria.*

Cuando hay evidencia de causas distintas a la edad, aunque también intervenga, indirectamente, la edad. La sarcopenia secundaria puede aparecer por la existencia de otras enfermedades de orden sistémico, como procesos inflamatorios, tumorales o disfunciones orgánicas. Otros procesos como el estilo de vida, sedentarismo y alteraciones nutricionales pueden también dar lugar a síntomas compatibles con la sarcopenia. La anorexia relacionada con el envejecimiento y la tendencia a consumir menos aminoácidos puede afectar gravemente a la reconstrucción muscular apareciendo uno de los fenómenos definidos en la sarcopenia como es la pérdida de masa muscular (26).

Además, el EWGSOP hace una distinción para definir mejor la sarcopenia y establece el concepto de la duración, indicando como "*sarcopenia aguda*" la afección que ha durado seis meses o menos. Considerando la enfermedad como "*sarcopenia crónica*" cuando ha durado más de 6 meses.

La sarcopenia aguda se asocia a la aparición de enfermedades o lesiones de corta duración y que normalmente se recuperan volviendo a la situación de salud. La sarcopenia crónica, se asocia a enfermedades crónicas

y progresivas con un mayor riesgo de mortalidad. Esta distinción es aconsejable porque facilita el seguimiento de la enfermedad, actuando de manera más inmediata y evitando el progreso de la afección (26).

II.2. Etiología de la sarcopenia

La sarcopenia es una enfermedad de etiología multifactorial y compleja, algunas de las causas varían con la edad como puede suponerse, pero además están relacionadas con otros factores como la herencia genética, la nutrición, cambios hormonales, procesos de inflamación, resistencia a la insulina, ejercicio físico, estilo de vida, etc. A nivel molecular se va a poder observar fundamentalmente, una disminución de la síntesis de proteínas en el músculo esquelético, además de una mayor degradación. (Figura 1)

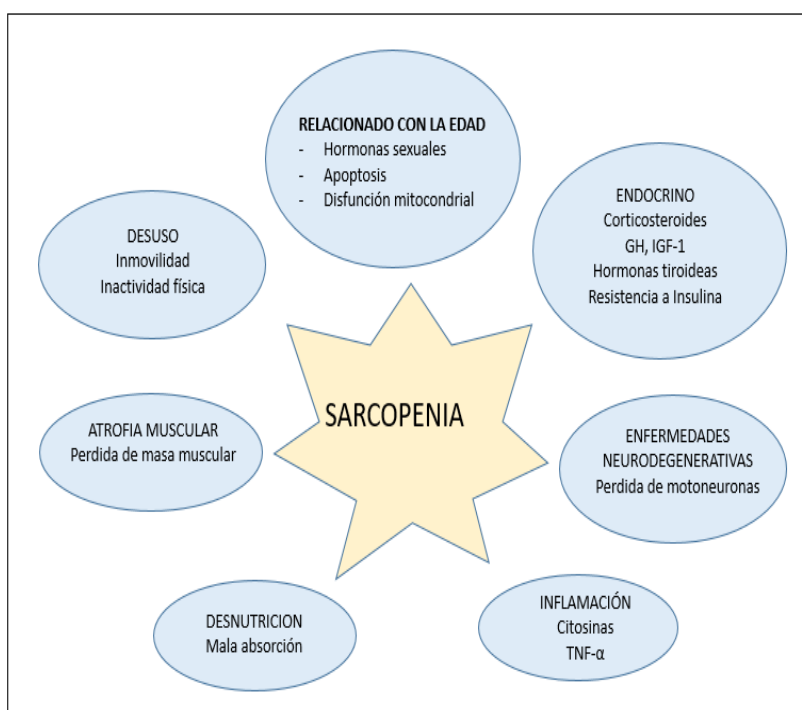


Figura 1: Causas más habituales de la sarcopenia. Modificado de “Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis” (26). GH: Hormona del crecimiento, IGF-1: Factor de crecimiento insulínico, TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.

II.3. Sarcopenia y factores relacionados con la edad

El deterioro de muchos de los sistemas biológicos, los comportamientos asociados a un estilo de vida que disminuyen la actividad física, el tabaquismo, la mala alimentación, así como los cambios en la secreción hormonal a lo largo de la vida, acaban siendo factores de riesgo determinantes (tabla 4). Estos mecanismos afectan a su vez a las proteínas musculares alterando el equilibrio de remodelación del tejido muscular, la pérdida de motoneuronas y una falta de recambio tras la apoptosis de células musculares (29).

Tabla 4. Etiopatogenia de la sarcopenia, relación con la edad, la enfermedad, la inactividad y la malnutrición (10).

Precipitantes	Mecanismos patogénicos	Consecuencias
Envejecimiento	↓ Hormonas ergogénicas Disfunción Mitocondrial Apoptosis	▼ Masa muscular ▼ Función ▼ Autonomía
Enfermedad	Situación Inflamatoria: Disfunción celular Catabolismo Caquexia	▼ Masa muscular ▼ Función ▼ Autonomía
Inactividad	Degradación protéica Infiltración grasa Resistencia insulínica	▼ Función ▼ Autonomía ▼ Calidad de vida
Desnutrición o Sobrealimentación	Malabsorción Déficits vitamínicos Alteración composición corporal	Obesidad ▼ Masa muscular

II.3.1. Influencia genética.

La susceptibilidad genética también juega un papel importante por el que se explican las diferencias individuales en los procesos de envejecimiento. Aunque hay mucho que investigar en este campo, se ha observado que la miostatina, como regulador de la masa muscular, está vinculada a varias áreas.

El factor de crecimiento-diferenciación de genes 8 (GDF8), el inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1A (CDKN1A), y el antígeno de diferenciación miogénica 1 (MyoD1), son genes que pueden determinar el desarrollo de la fuerza en las extremidades inferiores (29, 30). Tanto el genotipo R577X de la actina alfa 3 (ACTN3) como diversos polimorfismos de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), se han visto involucrados en el aumento de la fuerza extensora del cuádriceps. Mutaciones de Daf-2 y Age-1 descritas en modelos animales se han relacionado con la prevención del desarrollo de la sarcopenia (30) (Tabla 5).

Además, otros genes pueden estar determinando la pérdida de potencia y de la calidad muscular, como el gen del factor neurotrófico ciliar (CNTF A) (31). Se ha visto que la influencia hormonal de la vitamina D en el desarrollo muscular puede estar condicionada con la presentación de distintos polimorfismos de los receptores de esta vitamina (VDR) observándose una relación de potenciación de la sarcopenia con determinadas variantes (32, 33).

Tabla 5: Relación de genes con influencia sobre la masa/fuerza muscular y el desarrollo de la sarcopenia.

Gen	Vía afectada	Acción
-GDF8 -CDKN-1A -MYOD1	Miostatina	↑ Masa muscular
-CNTF-A	IGF-2	↓ Fuerza ↓ Calidad muscular
-Daf2 -Age-1	IGF-1	Prevención sarcopenia
-ACTN3 R 577X	mTOR	↑ Fuerza extensora cuádriceps
Polimorfismo ECA	ECA	
-VDR (polimorfismos)	Vitamina D	Desarrollo de sarcopenia

GDF8: factor de crecimiento-diferenciación de genes 8. CDKN-1A: inhibidor de la quinasa dependiente de ciclina 1A. MYOD1: antígeno de diferenciación miogénica 1. CNTF-A: gen del factor neurotrófico ciliar. Daf2: gen Abnormal Dauer formation. Age-1: gen Ageing alteration-1. ACTN3: actina alfa 3. R 577X: genotipo 557. ECA: enzima convertidora de angiotensina. VDR: Receptor de vitamina D. IGF-1: factor de crecimiento insulínico-1. IGF-2: factor de crecimiento insulínico-2. mTOR: blanco de la rapamicina en los mamíferos.

II.3.2. Células satélite

El envejecimiento ejerce una gran influencia sobre las células satélite, pues su número disminuye y además su capacidad de reclutamiento también se altera (34). Esto ocurre en mayor medida en las fibras de tipo II, que serán

las que actúen en actividades más intensas, mientras que las fibras de tipo I, en general van a permanecer más estables.

Las células satélite son células madre de las fibras musculares que tienen la capacidad de diferenciarse en nuevas fibras musculares y nuevas células satélite si son activadas en el proceso de regeneración (35). En la edad adulta alta, esta diferenciación celular puede decantarse hacia las fibras tipo I, caracterizadas por poseer un metabolismo aeróbico por su alta concentración de mitocondrias y como consecuencia desarrollar una contracción lenta y de baja intensidad, de utilidad para contracciones estáticas (13). Esto supone un gran desequilibrio que afectará al control de la movilidad, perdiendo calidad de movimientos y provocando desequilibrios tanto estáticos como dinámicos e implicando a la coordinación dinámica general (36, 37).

II.3.3. Obesidad

La obesidad también juega un papel importante en el proceso de degeneración que se lleva a cabo con la edad. La acumulación de grasa y el aumento de peso vienen asociados a una disminución de la masa muscular, por lo que con una apariencia de mantenimiento del peso absoluto se produce un intercambio entre el peso magro y el peso graso (38).

II.3.4. Degeneración mitocondrial

La teoría mitocondrial del envejecimiento se fundamenta en el daño que se produce en las mitocondrias y en el efecto que tienen las sustancias reactivas de oxígeno (ROS) en su deterioro. Hace especial referencia a otro factor que es donde se produce el daño y este lo dirige hacia la proximidad de ADNm muy sensible a los efectos del daño oxidativo (39).

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

La disfunción mitocondrial y la concentración de estos orgánulos en las células musculares disminuye con la edad. En las uniones neuromusculares, las mitocondrias se reducen numéricamente y tienden a mostrar signos de degeneración (es decir, disrupción de las crestas, formación de megamitocondrias consecuencia de fusiones entre las mitocondrias adyacentes) (40).

Estos fenómenos, conducen a altos niveles de daño oxidativo, disminución del número de vesículas sinápticas y disminución en la liberación de neurotransmisores durante la despolarización (41). Las alteraciones en la cadena respiratoria, el estado oxidativo y las subsiguientes alteraciones del equilibrio hormonal muscular se potencian en el envejecimiento, provocando la pérdida de masa muscular y por lo tanto una pérdida de fuerza y de función (42). La evidencia reciente sugiere que todos los procesos de deterioro del organismo provocados por la edad, como el hormonal, el estrés oxidativo, la inflamación, entre otros, están relacionados con este último factor que es la atrofia muscular con la consiguiente pérdida de masa muscular (43).

Aunque hay una gran cantidad de factores que pueden afectar a la mitocondria, el funcionamiento defectuoso de la cadena de transporte de electrones (ETC), elemento fundamental en la producción de ATP, es una de las claves en el proceso de envejecimiento. El mal funcionamiento de esta cadena supone una disminución de la eficacia en el proceso de producción de energía, con la pérdida de capacidad de reserva bioenergética, lo que explicaría el aumento de la dificultad para realizar actividades motrices (44).
(Figura 2)

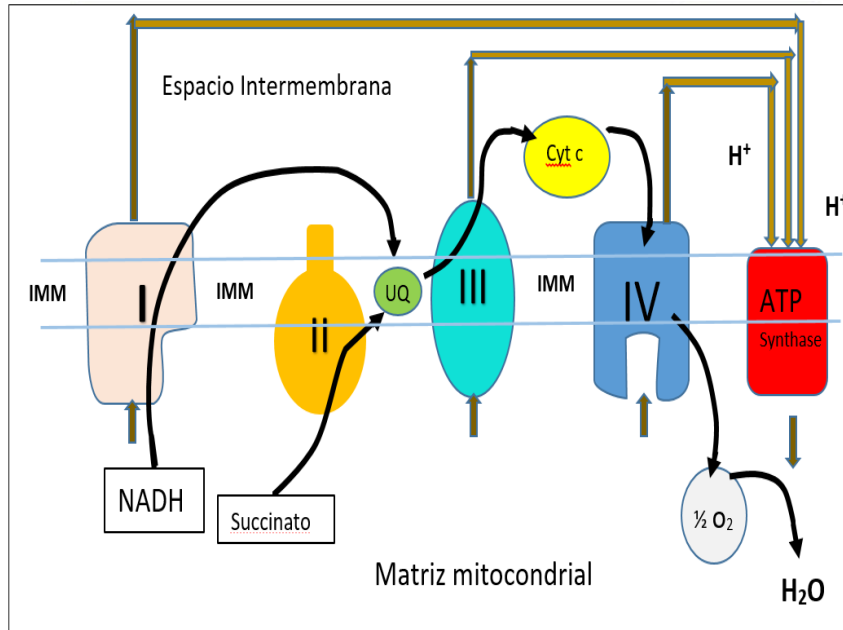


Figura 2: Complejos de la ETC, CoQ (coenzima Q) o Ubiquinona, acepta átomos de H⁺ de NADH deshidrogenasa y de Succinato deshidrogenasa (ciclo del ácido cítrico) (modificado de temas selectos de biofísica). ETC: cadena de transporte de electrones; IMM: membrana mitocondrial interna; Complejos mitocondriales I, II, III, IV; Cyt c: citocromo c; NADH: nicotinamida adenina dinucleótido; UQ: Ubiquinona.

El deterioro de las mitocondrias como consecuencia de la edad tiene múltiples causas y juega un papel importante en el envejecimiento haciendo que ciertas alteraciones moleculares y celulares conduzcan a la disminución del metabolismo energético en la mitocondria. El ambiente oxidativo propiciado por las ROS, condiciona procesos dañinos para la célula y activa también mecanismos de delección de ADN mitocondrial que lleva a una disminución de la actividad respiratoria en diferentes tejidos (45, 46, 47).

II.3.5. Estrés oxidativo

El aumento del estrés oxidativo está asociado al envejecimiento y supone un factor determinante en la homeostasis celular y en el correcto funcionamiento de los procesos productores de energía derivados de la respiración celular. Las ROS se producen como parte residual del proceso oxidativo llevado a cabo en la mitocondria, por ello el primer objetivo, y las que primero van a sufrir las consecuencias negativas, serán las propias mitocondrias. Las principales sustancias oxidantes que intervienen en el deterioro de las mitocondrias, son el anión superóxido O_2^- , el radical hidroxilo (OH \cdot) y el peróxido de hidrógeno H_2O_2 , por su actividad en el deterioro del ADN mitocondrial (ADNmt) afectando a su replicación y transcripción. Como resultado disminuye la función mitocondrial, que a su vez inicia el feedback de mayor producción de ROS y mayor daño de ADNmt. También tienen un efecto nocivo sobre los lípidos y proteínas de la membrana mitocondrial por lo que pueden considerarse como factores altamente tóxicos para las mitocondrias (48).

Los daños producidos en el ADNmt a menudo no son definitivos, la célula adopta una serie de estrategias reparadoras para continuar con su homeostasis y conseguir perdurar más allá de los daños producidos. El ADN se repara escindiendo partes dañadas como las bases o los nucleótidos (49, 50). Además, los daños producidos por ROS pueden ser neutralizados por la mediación de agentes antioxidantes como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión peroxidasa (GPX) (51).

La concentración de ADNmt y ARNmt disminuye con la edad y esto se correlaciona con la cantidad de ATP producido en la mitocondria, lo que sugiere que el envejecimiento en el músculo y la disfunción mitocondrial

muscular, están relacionadas con la disminución de ADNmt (52). Así mismo, con la edad aumenta el número de mutaciones en el ADNmt produciéndose un acortamiento en los telómeros y favoreciendo un aumento de la senescencia. Por otro lado, la cantidad de ADNmt en tejido envejecido también está relacionada con el papel que tiene la actividad física aeróbica, existiendo pruebas contundentes de que la actividad física aeróbica aumenta el contenido de ADNmt (53).

Para mantener una correcta homeostasis, se producen diversas sustancias antioxidantes. Estas son principalmente la Catalasa (CAT), Glutación peroxidasa (GPX) y la Superoxido dismutasa (SOD). Activan así reacciones de neutralización de ROS que en condiciones normales garantizan un equilibrio para mantener el funcionamiento normal del orgánulo (54).

Cuando los antioxidantes tienen un funcionamiento adecuado van a modular la actividad del superóxido y los derivados intermedios protegiendo a las estructuras mitocondriales, como los lípidos y proteínas de la membrana. Pero cuando se ven limitados en su actuación, por causas como alteraciones producidas por la edad u otras enfermedades, asociadas o no a la edad, no son capaces de neutralizar el efecto dañino de las ROS y conducen a la disminución del metabolismo energético y al fallo mitocondrial general (55).

II.3.6. La atrofia muscular

La disminución de la masa corporal con la edad podría ser una respuesta adaptativa a la disminución del tejido contráctil, de esta manera se facilita la funcionalidad del organismo, manteniendo los niveles de fuerza acomodados a los cambios atróficos en la estructura del músculo. El músculo esquelético es el más afectado por el envejecimiento tanto a nivel estructural como a nivel funcional. La cantidad de músculo va a depender de las

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

condiciones fisiológicas o patológicas del organismo. En el músculo esquelético del adulto se lleva a cabo un proceso similar en respuesta a la acción contráctil (52).

La sobrecarga mecánica es uno de los estímulos más importantes para desencadenar todos los procesos que lleva a la estabilización y desarrollo muscular. Además de los ejercicios de fuerza es necesaria la intervención de hormonas como los andrógenos y los agonistas β -adrenérgicos. El desarrollo muscular se produce cuando la síntesis de proteínas se impone a su destrucción. La relación se invierte en distintas situaciones como en procesos de inanición, enfermedades que cursan con denervación, insuficiencia cardíaca, acción de las hormonas catabólicas y por supuesto el envejecimiento (51).

La síntesis de proteínas está regulada por dos vías de señalización fundamentales. Como regulador positivo encontramos la vía IGF1-Akt-mTOR (factor de crecimiento similar a la insulina 1, proteína quinasa específica de serina o proteína quinasa B, blanco de la rapamicina en los mamíferos) y como regulador negativo la vía miostatina-Smad2/3. Además, hay identificadas otras vías adicionales que interactúan con estas vías y que se ven influenciadas por múltiples factores desencadenantes como el estrés, el ejercicio o la alimentación (24,54, 56). (Figura 3)

Es importante destacar tres puntos en cuanto al comportamiento del músculo esquelético:

- Primero: ante un mismo estímulo, hay distintos tipos de fibra o incluso distintos músculos que presentan respuestas diferentes. De esta forma, ante la inanición también distintos músculos y fibras responden de distinta forma.

Las fibras rápidas son más susceptibles a la falta de nutrientes que las fibras lentas, esto puede deberse a la distinta sensibilidad de los músculos rápidos o lentos a los corticoides (57).

- Segundo: la dirección que toman los procesos de formación o destrucción muscular no siempre obedece al equilibrio o igualdad matemática, es decir, no siempre la hipertrofia muscular es equivalente a aumento de síntesis de proteínas y disminución de degradación de proteínas. De la misma manera que atrofia no equivaldría obligatoriamente a disminución de síntesis y aumento de degradación de proteínas. En los estudios de Goldberg (58) sobre el crecimiento muscular, en función del estímulo que provoca la hipertrofia, se puede ver como estos equilibrios no son tan precisos. Así, un estímulo hipertrófico en el sóleo por la hormona del crecimiento muestra un incremento de la síntesis de proteínas, sin cambio en la tasa de degradación de proteínas (59). Sin embargo, una denervación muscular presenta una mayor degradación de proteínas y una síntesis de proteínas aumentada en vez de reducida (52, 60).

- En tercer lugar, no siempre van asociados la renovación de proteínas y el recambio célula-núcleo en el músculo esquelético, es decir, no siempre van en paralelo. Esto es debido a la diferencia existente entre distintos dominios mionucleares. El dominio mionuclear es definido como cantidad de volumen citoplasmático por mionúcleo y este volumen será diferente en distintas fibras.

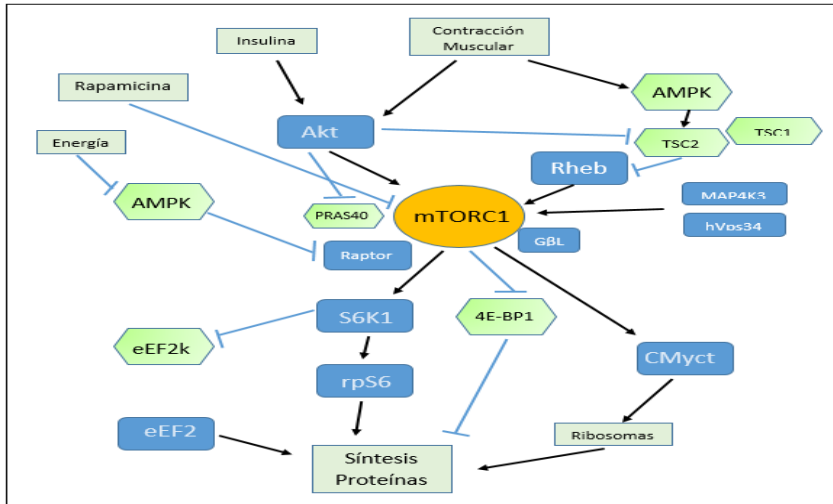


Figura 3: Vías de activación y estímulos que intervienen en la señalización de AMP Adenosin monofosfato; AMPK: proteína quinasa activada por AMP Akt: serina treonina quinasa; eEF2: factor de alargamiento eucariota 2; GβL: G protein β-subunit-like protein; hVps34: Class III PI 3-kinase; MAP4K3: Mitogen-Activated Protein Kinase 3; mTOR: blanco de la rapamicina en los mamíferos; Rheb: Gen de la Superfamilia Ras de proteínas G; S6K1: gen activado por mTOR; Rps6: fosfo p S6; TSC1-2: complejos de esclerosis tuberosa; 4E-BP1: eIF4E-binding proteins

II.3.6.1. Vías de señalización de degradación de proteínas

Las vías de señalización de crecimiento muscular están totalmente relacionadas con las vías que afectan a la degradación de proteínas, la pérdida de masa muscular, la apoptosis y la pérdida de células en general. Por su parte, la atrofia muscular esquelética está caracterizada por la pérdida de la masa muscular y la fuerza, principalmente debido a un incremento en la degradación de proteínas miofibrilares, como la cadena pesada de miosina (MHC).

- *Miostatina (MSTN)*. Es una mioquina producida por el músculo esquelético, que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas. En general, inhibe la progresión del ciclo celular y reduce los niveles de factores reguladores miogénicos (43, 61, 62). La miostatina circula en la sangre en un complejo no covalente con otras proteínas que la mantiene en un estado latente e inactivo, y distintos estímulos liberan a la miostatina para que pueda ser activa (63).

La miostatina también puede incidir en la síntesis de proteínas (64). Sin embargo, también incide en otra vía que tiene efectos de destrucción de proteínas como es la vía FoxO (factor de transcripción forkhead-O) lo que potencia una mayor expresión de atrogin-1. Esta vía dependiente de FoxO, influye también sobre la propia miostatina, indicando así, que hay una interacción de vías de señalización miostatina-Akt-FoxO (43, 65).

Dentro de los efectos de MSTN en la atrofia, se encuentra un aumento de la degradación de proteínas miofibrilares debido a una mayor actividad del sistema ubiquitina-proteosoma (UPS), especialmente un incremento de Atrogina-1 y MuRF-1, E3 ubiquitina-ligasas. El efecto atrófico inducido por MSTN es dependiente de la activación de la vía de señalización de Smad.

- La *catepsina-L*, es una proteasa lisosómica conocida por su implicación en la autofagia, se encuentra aumentada en diferentes modelos de desgaste muscular (52, 66). El papel de la inducción de catepsina-L aún no está claro, pero la evidencia reciente sugiere que el sistema de autofagia-lisosoma se activa durante la atrofia. Según Mizushima et al. (67), los análisis morfológicos documentan la activación del sistema de autofagia durante el ayuno en el músculo esquelético. De hecho, el cultivo de células musculares confirmó que el sistema de autofagia-lisosoma es la principal vía proteolítica implicada en la proteólisis dependiente de nutrientes. Otros experimentos dan

una idea de las vías de señalización involucradas e identifican un control del sistema autofágico independiente de mTOR. (Figura 4)

II.3.7. Apoptosis

La programación de la muerte celular tiene como fin controlar el desarrollo. Las mutaciones acumuladas en el ADN mitocondrial del tejido muscular están asociadas con la apoptosis acelerada de los miocitos. La apoptosis también puede ser el vínculo entre la disfunción mitocondrial y la pérdida de masa muscular. La evidencia sugiere, que la apoptosis de los miocitos es un mecanismo básico subyacente a la sarcopenia (68) y las biopsias musculares de personas mayores muestran diferencias asociadas con la apoptosis, en comparación con los sujetos más jóvenes (69). En la sarcopenia, esta disfunción mitocondrial potenciadora de la apoptosis, se sugiere como más susceptible sobre las fibras musculares tipo II, ya que se caracterizan por poseer una concentración menor de mitocondrias al intervenir en la contracción voluntaria de músculos fásicos encargados de la generación de contracciones de alta intensidad y corta duración con predominio de la vía anaeróbica (70).

La magnitud de la apoptosis en comparación con los otros mecanismos que conducen a la sarcopenia aún se desconoce. La apoptosis puede representar un mecanismo final común para la pérdida muscular en la sarcopenia, pero múltiples agentes y vías etiológicas también pueden conducir a este mecanismo. Nuestra comprensión de los mecanismos de apoptosis sugiere que los inhibidores de caspasa pueden representar una posible terapia futura (71). La apoptosis puede ser modulada. El entrenamiento físico revierte la apoptosis del músculo esquelético (72) y la

restricción calórica dirigida a reducir el estado proinflamatorio derivado del acúmulo de grasa visceral, la reduce (73).

II.3.8. Factores endocrinos

Los niveles hormonales disminuidos relacionados con la edad, pueden afectar a la pérdida de masa muscular y a la disminución de la fuerza. Los andrógenos, los estrógenos, la hormona del crecimiento, la prolactina, la insulina, las hormonas tiroideas, las catecolaminas y los corticoides van a alterar sus tasas de producción y esto repercute en los distintos sistemas asociados a ello, siendo una parte importante en la aparición de síntomas del envejecimiento y que, además, pueden ser causa de la aparición de la sarcopenia (35).

a) *Insulina*

Frecuentemente, con la edad se produce un aumento del peso corporal asociado en muchas ocasiones a un aumento del tejido graso corporal y de la masa grasa intramiocelular. Este fenómeno puede estar propiciado por un aumento de la resistencia a la insulina (74). El aumento de peso, también puede determinar una disminución del efecto anabólico muscular de la insulina (65). Además, la insulina tiene un efecto estimulante de la síntesis de proteínas mitocondriales del músculo esquelético, acción que se ve afectada negativamente con la edad, aunque no se haya podido describir con exactitud este proceso y se necesiten más investigaciones para determinar el mecanismo que interviene (38, 75). Así podemos interpretar que la edad está asociada a una disminución del efecto anabólico de esta hormona, que deriva no solo en una menor síntesis proteica, sino que se produce una alteración del metabolismo de la glucosa a favor de un aumento de la grasa corporal.

b) *Estrógenos*

La disminución de los estrógenos secundaria al envejecimiento, supone una disminución de la masa y función muscular (76, 77). Una de las vías que afectan a esta disminución puede ser el aumento de los niveles de citoquinas inflamatorias que se producen en el envejecimiento, como por ejemplo el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y la interleucina 6 (IL-6), inclinando la balanza hacia la destrucción muscular (78). La terapia sustitutiva se ha visto que tiene un efecto positivo sobre la fuerza y sobre el aumento del metabolismo graso a corto plazo (77). Los estrógenos producen un aumento de globulina fijadora de hormonas androgénicas, lo que produce una disminución de la testosterona circulante libre en el suero. Esto debería provocar una disminución de la síntesis proteica, pero el conjunto de implicaciones en el equilibrio proteico puede determinar un resultado final a favor del anabolismo (79). Por último, otro de los mecanismos que afectan directamente sobre la reducción de la masa muscular, es su interacción sobre los receptores β en la membrana de las células musculares. Una disminución de los niveles de estrógenos por tanto supondría una menor activación de esta vía anabólica (80).

c) *Hormona del crecimiento (GH) y factor de crecimiento similar a la insulina (IGF1)*

Ambos factores disminuyen con la edad, lo cual influye negativamente sobre el anabolismo y la fuerza muscular. La secreción de GH es máxima en la pubertad y disminuye gradualmente durante la edad adulta, disminuyendo un 1% a partir de los 30 años. La terapia con GH suplementaria, provoca un aumento de la masa magra y una disminución de la proporción de grasa corporal (77).

En cuanto a la administración de IGF1, produce un aumento en la diferenciación de células satélite y aumenta el número de proteínas en las células existentes. Además, también se ha visto que la IGF1 interactúa con los andrógenos, lo que coadyuva a la producción de síntesis proteica. Para que la acción de aumento de masa muscular secundaria al efecto de estas hormonas se acompañe de aumento de fuerza, es necesario seguir un programa de entrenamiento, que “canalice” esa hipertrofia hacia una mejora funcional (81, 64).

d) *Testosterona*

Los niveles de testosterona disminuyen con la edad. Como ocurre con el resto de hormonas, tiene diversas implicaciones a nivel sistémico, pero supone un importante impacto negativo en la síntesis de proteínas comparado con otras hormonas (82). La disminución de testosterona en hombres es de un 2 % aproximadamente por año a partir de la tercera década de vida. En el caso de las mujeres sus niveles disminuyen de forma más temprana comenzando hacia los 20 años y siguiendo una regresión más rápida. Desde el punto de vista anabólico, la testosterona promueve la diferenciación de células satélite musculares, que como hemos comentado se ven disminuidas en el envejecimiento (81, 83). Además, unos niveles bajos de testosterona promueven el catabolismo proteico mediante el desbloqueo de la vía inhibitoria de Akt mediada por la miostatina (77).

e) *Catecolaminas*

Las elevaciones agudas de catecolaminas, causadas por la actividad física son capaces de realizar cambios en el fenotipo muscular. Pueden causar hipertrofia muscular a través de la estimulación de receptores

adrenérgicos β_2 y favorecer la adaptación de las fibras lentas hacia rápidas. Algunos de estos efectos pueden ser activados por la producción local de IGF1 en el músculo esquelético (25).

f) *Glucocorticoides*

Es conocido que sus niveles están aumentados en muchas enfermedades asociadas a la pérdida de músculo esquelético y por otro lado el tratamiento con glucocorticoides actúa sobre la degradación de músculo a través de la inducción de los factores atrogén-1 y MuRF1. Los glucocorticoides una vez en el núcleo celular, activan la expresión de los genes diana y se produce una inhibición de mTOR, activando un estado de potenciación de atrofia muscular (24, 84). Además, también interviene FoxO1 que junto al receptor de los glucocorticoides favorecen la expresión de MuRF1. Sin embargo, no están claros los mecanismos por los que actúan los corticoides en la supresión de fibras musculares, más bien parece que los efectos producidos se llevan a cabo de forma indirecta afectando a las vías de desarrollo y pérdida muscular. Parece ser que la atrofia asociada a los glucocorticoides, actúa de forma selectiva en las fibras tipo II (85).

II.3.9. Factores neurodegenerativos

El factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), está asociado a la supervivencia celular y a la plasticidad sináptica y se reduce también con la edad. Esto parece que va a interferir en los procesos metabólicos periféricos de las fibras musculares, estimulado por la acción mecánica del músculo, favoreciendo el metabolismo energético y mejorando la función muscular. Además, va a intervenir en la reparación de ADN. Uno de los procesos que invertirán de alguna manera el proceso degenerativo, se ha visto que es el

ejercicio, pues provoca un aumento de los niveles de BDNF y este parece intervenir en la homeostasis del sistema nervioso central, así como del músculo esquelético (86).

II.3.10. Inflamación

La inflamación va a ser un desencadenante de algunos procesos que intervienen en el envejecimiento y por lo tanto en la degradación de muchos de los sistemas fisiológicos que mantienen la homeostasis celular. Las citoquinas proinflamatorias van a jugar un papel importante en el desgaste muscular y en general en el deterioro producido con el envejecimiento. Numerosos estudios han señalado a las citoquinas como protagonistas importantes en el desarrollo de la sarcopenia, encontrando niveles plasmáticos elevados de IL-6 y TNF α , lo que indica un estado proinflamatorio generalizado. Estas citoquinas especialmente involucradas en la señalización muscular son llamadas “mioquinas” (87).

a) *Interleucina -6 (IL-6)*

Es una citoquina presente en gran parte de las enfermedades crónicas, regulando las funciones inflamatorias y metabólicas. En el envejecimiento progresivo la función inmune celular se ve deteriorada y esto se combina con una inflamación constante, aunque de baja intensidad. Esta susceptibilidad a un estado proinflamatorio en las células miogénicas aisladas, seguramente afecta a la disminución de la capacidad de regeneración del músculo. Los niveles de IL-6 se ven aumentados hasta 100 veces en la circulación plasmática, después del ejercicio, consecuencia simplemente de la contracción muscular, sin necesidad de destrucción de fibras musculares para que se produzca esta elevación (88). Siendo producida por el músculo, como

una mioquina, ha generado interés por su papel en el metabolismo muscular (74). La IL-6 se puede ver aumentada en respuesta a otros estímulos como son las ROS, los lipopolisacáridos, el NO y a otras citoquinas proinflamatorias (89, 90).

La señalización de IL-6 se lleva a cabo a través de la unión de esta con el receptor específico en la membrana en el músculo esquelético y este activa las vías a nivel inferior como AMPK, FoxO3 y miostatina como vías con resultados catabólicos, pero también va a activar la vía PI3K para regular el metabolismo del músculo (91). La IL-6, así como el TNF α realizan sus funciones en el músculo a través de los factores de transcripción NF-kB (factor nuclear kB) y STAT3 (transductor de señal y activador de transcripción-3), activando genes proinflamatorios y proteolíticos. NF-kB tiene un gran poder inflamatorio en el músculo y actúa evitando la diferenciación miogénica con la consiguiente inhibición de la regeneración celular, llevando a las fibras a una degradación progresiva.

Por otro lado, se ha visto que la IL-6, puede activar AMPK (proteína quinasa activada), a su vez regulado por el nivel de energía, factor que mejora la lipólisis y la oxidación de la grasa. Por lo tanto, la IL-6 es un factor a tener en cuenta en el equilibrio existente en el proceso de envejecimiento para desencadenar la resistencia anabólica o amortiguarla para que el proceso sea más atenuado (73).

En cuanto a estudios relacionados con la funcionalidad y el estado de movilidad general de las personas mayores, varios estudios han tratado la relación del aumento plasmático de citoquinas proinflamatorias y en especial la IL-6 con la disminución de la movilidad y capacidad reducida para realizar actividades cotidianas y un aumento de la mortalidad (92). En resumen, en

los músculos envejecidos se produce un estado proinflamatorio superior al habitual, con aumento de la concentración de citoquinas y esto va a impedir que los procesos regenerativos se realicen con normalidad por lo que cada vez habrá más deterioro de la miogénesis (93).

No obstante, la IL-6 puede modularse pudiendo tener cierta influencia antiinflamatoria en función de su concentración plasmática y su interacción con el TNF- α . Por lo tanto, el efecto de la IL-6 es ambiguo, pues en algunos momentos puede actuar como una citoquina proinflamatoria y en otros, como antiinflamatoria. En función de cómo se encuentre en la sangre y dependiendo del músculo que podría actuar inhibiendo el TNF α (94).

b) *Factor de necrosis tumoral TNF- α*

Es una citoquina muy presente en la inflamación crónica, es promotor de la IL-1 que desencadena los procesos metabólicos en el músculo esquelético como aumento de la gluconeogénesis, lipólisis y la proteólisis, además de la disminución de proteínas, de lípidos y de síntesis de glucógeno (95).

El TNF α por tanto, promueve la pérdida de masa muscular a través de la degradación de proteína miofibrilar y de la apoptosis celular, esto hace que después de lesiones musculares, en enfermedades gerontológicas, sea muy difícil la producción y reorganización de la fibra muscular. Además, puede actuar como inhibidor de las vías anabólicas como la IGF-1, por aumento de la resistencia a la hormona del crecimiento (GH) (96).

El sistema ubiquitina-proteasoma (UPS) en la fase final de la vía Miostatina - FoxO es un potente transcriptor de la degradación de proteínas y

esto lo hace a través de la expresión positiva de los genes de las ligasas Atrogin1 y MuRF1, muy relacionados con la proteólisis muscular. El TNF α y el IGF1 pueden controlar la expresión de estos genes. El TNF α es un activador de los factores de transcripción NF κ B, este se mantiene inactivo gracias a un grupo de proteínas inhibidoras (I κ B), la presencia de niveles elevados de TNF α activa el complejo I κ B quinasa (IKK β) que fosforila a (I κ B) y esto lleva a la transcripción mediada por NF κ B, suponiendo un desgaste muscular muy importante que va a estar mediado por la ubiquitina ligasa MuRF1, pero no por la atrogina-1 (97).

Otra vía afectada por acción del TNF α es la de Óxido nítrico sintasa inducible (iNOS). Esta enzima contribuye al desgaste muscular mediante la formación de aniones superóxido y peroxinitrito mediante el metabolismo de la arginina y citrulina, activando mecanismos de apoptosis (7). El TNF α es uno de los protagonistas principales que intervienen en la apoptosis celular del músculo, el estrés oxidativo por su parte está íntimamente implicado con la inflamación y la apoptosis y en conjunto todos comparten el objetivo de la relación edad, pérdida de masa muscular esquelética y fuerza (97).

c) Sustancias reactivas de Oxígeno (ROS)

La influencia del estrés oxidativo no solo interviene a nivel mitocondrial-cadena respiratoria, como ya hemos desarrollado previamente. Los niveles de ROS tienen una importante influencia sobre las vías de señalización celular como mTOR, Akt, también presentan una influencia significativa a nivel de señalización intercelular, promoviendo la liberación de las citoquinas proinflamatorias ya citadas (IL-6 y TNF α) (37, 64). De forma similar a como ocurre a nivel mitocondrial, los niveles de ROS ejercen un efecto modulador que no siempre tiene que repercutir de forma negativa en la célula muscular.

De hecho, con el envejecimiento se produce una pérdida de esa capacidad reguladora de las ROS, inclinado la balanza sobre la activación de procesos catabólicos a favor de la sarcopenia (98).

d) *Óxido Nítrico (NO)*

Con la inflamación y el envejecimiento se produce una mayor activación de iNOS enzima inducible de óxido nítrico sintasa sobre expresada por el aumento de niveles de TNF α principalmente, desencadenando los procesos de catabolismo muscular, desarrollados previamente. (99)

II.3.11. Desnutrición

Existen varias publicaciones (14, 21) que relacionan la pérdida de peso y especialmente de proteínas con la edad, podemos aceptar que esta pérdida está en torno a un 30 %, pero lo que resulta difícil es concretar a que parte de esta bajada del peso corresponde a la alimentación, a la enfermedad o a la inactividad.

La ingesta de proteínas en ancianos en general tiende a disminuir, posiblemente por la anorexia del envejecimiento. Además, hay evidencias de que las personas mayores pueden tener alteraciones de la regulación energética, lo que favorece la pérdida de peso, correspondiendo también a una pérdida de músculo (100). La síntesis de proteínas, es estimulada por la presencia de aminoácidos, pero en personas de edad avanzada no siempre tiene una repercusión positiva. Esto puede ser debido a distintas causas, como por ejemplo puede haber una mayor extracción de aminoácidos de la dieta a nivel esplácnico. Esto puede limitar la llegada de aminoácidos al

músculo esquelético periférico y la posibilidad de la estimulación en la síntesis de proteínas musculares por la presencia de los aminoácidos (101).

II.3.12. Desuso

La inactividad es una causa importante en la pérdida de masa muscular, así como de fuerza y esto ocurre en cualquier edad. Es bien conocido que el reposo en cama por lesión o enfermedad, reducen la cantidad de peso magro lo que lleva acompañado de una disminución importante de la fuerza. En prácticamente todas las causas expuestas hasta este momento, tiene incidencia la falta de actividad, por ello, los mecanismos que llevan a la pérdida de músculo esquelético serán la suma de todas ellas, aunque la incidencia de unas u otras tenga que ver a veces con situaciones individuales (102). La inactividad física es una de las causas de la adiposidad abdominal, esto supone una mayor tasa de grasa visceral, por lo que se produce un aumento de la inflamación crónica sistémica. La inflamación está asociada a multitud de las enfermedades relacionadas con la edad, como la resistencia a la insulina, aterosclerosis, neurodegeneración y crecimiento tumoral.

No vamos a hacer una revisión detallada de todas las enfermedades en las que hay una dependencia mayor o menor de la falta de ejercicio físico, pero si podemos acercarnos someramente a qué tipo de ejercicio es el adecuado para prevenir síntomas que tienen que ver con la sarcopenia. Podemos contemplar dos tipos de ejercicio bien estructurados y con los resultados muy estudiados, el ejercicio de desarrollo de la resistencia o ejercicio aeróbico y el ejercicio para el desarrollo de la fuerza o ejercicios de sobrecarga.

El ejercicio de fuerza parece el más indicado para prevenir la sarcopenia, ya que su objetivo es el desarrollo muscular y hay muchos estudios que respaldan el crecimiento del músculo esquelético después de un programa de fuerza, a base de series de repeticiones con sobrecarga, dinamómetros, pesas, etc. También hay un respaldo científico sobre los trabajos de resistencia o aeróbicos, pues estos mejoran la fatiga, el equilibrio, la liberación del dolor, factores de riesgo cardiovascular, el apetito, el sueño y actúan a nivel molecular sobre factores esenciales en el desarrollo de la sarcopenia como la degradación de las mitocondrias. Los ejercicios de resistencia, tienen una influencia sobre la obesidad y también mejoran la calidad muscular (103, 104).

II.4. Diagnóstico de la sarcopenia

El diagnóstico de la sarcopenia se basa fundamentalmente en la medida de la masa y fuerza muscular y como tercer factor no menos importante, tenemos la evaluación del rendimiento físico. En cuanto a la masa muscular, resulta difícil su medición sobre todo por la necesidad de utilización de medios muy costosos y de difícil acceso salvo para la investigación. Por lo que, en la práctica clínica resulta complicado constatar estos parámetros. Por estas razones la EWGSOP2 en su reunión de 2018 (26) trataron de aportar nuevas medidas y puntos de consenso para facilitar tanto el diagnóstico, como su seguimiento y tratamiento para mejorar la atención a las personas con sarcopenia. Para ello proponen los siguientes términos:

II.4.1. Criterios para el diagnóstico

Para la determinación de la sarcopenia “la EWGSOP” recomienda el uso del cuestionario SARC-F como sistema para dar un primer paso para su

localización. Este cuestionario es muy simple y muy fácil de contestar. Supone una información muy precisa ya que la aporta directamente el paciente sobre la percepción personal a cerca de una serie de síntomas. El SARC-F es un cuestionario que consta de cinco ítems que plantean la limitación de la fuerza, la capacidad para caminar, la facilidad o no para levantarse de una silla, la facilidad para subir escaleras y solicita una información acerca del historial de caídas (105). Esta encuesta se ha utilizado en grandes poblaciones y de distintos orígenes, americanos, afroamericanos y chinos, el resultado se ha estimado como muy útil para identificar a las personas en riesgo de sufrir la sarcopenia (106, 107). Es posible que los profesionales de la medicina clínica busquen un instrumento de diagnóstico más objetivo para utilizarlo en poblaciones susceptibles de padecer la sarcopenia. Un ejemplo de esto es la prueba Ishii en la que utilizan tres datos, la edad, la fuerza de prensión y la circunferencia de la pantorrilla (108).

III.MEDICIÓN DE LOS PARÁMETROS

III.1. Fuerza

Es uno de los parámetros más fáciles y baratos a medir, siendo además muy sensible a la vez que útil. El sistema más utilizado es la fuerza de agarre, para lo que se necesita solamente un dinamómetro de mano. Los resultados, en un nivel bajo, son muy predictores del estado del paciente, de sus limitaciones y de su calidad de vida. La fuerza de agarre se correlaciona con la fuerza en otros sectores corporales (109). Como medida de fuerza también es muy utilizado levantarse cinco veces seguidas de una silla, su accesibilidad es fácil y el resultado se obtiene cronometrando la duración del esfuerzo. Esta prueba va a estar muy orientada a la fuerza de cuádriceps y además hay una

intervención de la resistencia, por lo que podemos obtener resultados dirigidos a la condición aeróbica del paciente. (Tabla 5)

Tabla 6: Herramientas diagnósticas de sarcopenia y para la medición de fuerza muscular, masa muscular y rendimiento físico en la práctica clínica y en la investigación.

Variable	Práctica Clínica	Estudios de investigación
Cribado - Detección	-SARC-F cuestionario -Herramienta detección Ishii	-SARC-F
Fuerza del Músculo esquelético	-Fuerza de prensión -Prueba de elevación de silla	-Fuerza de prensión -Test de la silla (5 veces)
Músculo esquelético Masa muscular Calidad muscular	-Masa muscular apendicular (ASMM) : DXA	Masa muscular apendicular (ASMM):DXA
	-Masa muscular de todo el cuerpo (SMM) o (ASSM): Análisis impedancia Bioeléctrica	-Masa muscular de todo el cuerpo (SMM) o (ASSM): RMN
		-Área transversal cuádriceps: CT/RMN
	-Área transversal lumbar: CT/RMN	-Área transversal lumbar: CT/RMN
		-Calidad muscular: Área Transversal CT/RMN Biopsia.

Variable	Práctica Clínica	Estudios de investigación
Rendimiento físico	Velocidad de marcha en 4 metros	-Velocidad de marcha
	-Short physical performance battery (SPPB)	-Short physical performance battery (SPPB)
	-Timed-up-and-go-test (TUG)	Timed-up-and-go-test (TUG)
	-400m. andar-correr (400-m-walk)	-400m. andar-correr (400-m-walk)

SARC-F: Cuestionario sarcopenia; SMM: masa muscular total; ASMM: masa muscular apendicular; DXA: absorción de doble energía de flejes de rayos X; BIA: Análisis de impedancia bioeléctrica; RMN: resonancia magnética; (CT): tomografía computarizada; SPPB: batería corta de condición física; TUG: Test tiempo para levantarse y caminar.

III.2. Calidad muscular

Existen muchas técnicas para determinar tanto la cantidad de masa muscular como su calidad. Una prueba muy utilizada ha sido el índice de masa corporal (IMC) pero parece haber consenso en que la correlación con la masa muscular no es muy adecuada, por lo que no se aconseja su utilización. Los medios más utilizados son la resonancia magnética (RMN) y la tomografía computarizada (TAC), son los más precisos y los preferidos por la mayoría de los investigadores, aparte de su especificidad los métodos por imagen posibilitan la obtención de datos totales y datos segmentarios como musculatura total (SMM) y apendicular (ASM).

La absorción de doble energía de flejes de rayos X (DXA) es más asequible y por lo tanto más fácil de utilizar, pero no existe un consenso en cuanto a las distintas marcas y modelos de aparatos para obtener una referencia consensuada. Con este sistema se obtienen imágenes que pueden determinar tanto SMM como ASM (110).

El análisis de impedancia bioeléctrica (BIA) es otro medio muy utilizado tanto para la SMM como para ASM. Este equipo no mide directamente los parámetros, hace una estimación a través de una ecuación de la conductividad eléctrica de todo el cuerpo. Esta ecuación esta calibrada en base a los datos obtenidos por DXA en una población específica. Por ello, es necesario muy a menudo adaptarlo a las poblaciones a las que va dirigido, pues no todas tienen el mismo comportamiento en cuanto a su conductividad. Las ventajas de este sistema estriban en su portabilidad y en su precio que resulta muy asequible por lo que su uso está muy extendido (111). (Tabla 6)

Tabla 7: Pruebas físicas más utilizadas en la práctica clínica y en la investigación científica.

Pruebas físicas	Realización	Valoración, parámetros
(SPPB) Short physical performance battery	Velocidad de marcha Equilibrio Levantarse de la silla	Rendimiento físico
Velocidad de marcha	4 m. Andando (Cronometrado)	Discapacidad, deterioro cognitivo
(TUG) Timed-up-and-go-test (Sentadilla)	Silla, levantarse, andar, sentarse (Cronometrado)	Discapacidad
400 m andando	Recorrer 400 m. andando (Cronometrado)	Resistencia
Distancia en 6 min.	Metros recorridos en 6 min.	Resistencia
Soporte de la silla	Silla, levantarse y sentarse (Cronometrado)	Fuerza
Fuerza de prensión	Presión de agarre con dinamómetro.	Fuerza

III. 3. Rendimiento Físico

El rendimiento físico en general se ha correlacionado directamente con la locomoción, de ahí que la mayoría de las pruebas estén relacionadas con el desplazamiento. De esta manera, no solamente se obtiene información del músculo, permiten un abordaje multidimensional, informando también sobre la función nerviosa central y periférica. Algunas de las pruebas más utilizadas

son la Short Physical Performance Battery (SPPB), la prueba “tiempo en levantarse de la silla desplazarse hasta una referencia colocada a tres metros y volver a sentarse”, Timed-Up and Go (TUG) y una prueba de velocidad de marcha de 400 metros que se realiza en un recorrido de 20 metros en el que se dan 20 vueltas. La velocidad de marcha es una prueba muy utilizada por su facilidad de ejecución, y porque predice problemas relacionados con la sarcopenia como la discapacidad, deterioro cognitivo, dependencia, etc. (112).

El SPPB es un conjunto de pruebas que incluyen la evaluación de la velocidad de la marcha, mediante una prueba de distancia de 4 metros, una prueba de equilibrio y una prueba de tiempo invertido en levantarse de la silla. Es una batería bastante completa, de fácil ejecución y muy específica, el único inconveniente es que se emplean unos 10 minutos en llevarla a cabo (113). (Tabla 7)

III.4. Otras alternativas

Se están utilizando multitud de pruebas encaminadas a detectar con la mayor fiabilidad posible un diagnóstico preciso y fiable. La variedad de las pruebas y la dificultad de utilización de algunas de ellas resultan complicadas para poder ser generalizadas. Entre otras se ha utilizado la medida de la 3ª vértebra lumbar (L3), utilizando la tomografía computarizada (TAC) y aun demostrando que esta técnica da medidas precisas de la composición corporal, por su correlación con el músculo de todo el cuerpo, es poco utilizable porque es cara, tiene difícil acceso y supone una exposición a radiación para el paciente (114).

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

Medición de la sección del muslo a nivel medio con RMN o TAC, puede ser muy útil y se encuentran correlaciones con la masa muscular total, pero tiene los mismos inconvenientes que la medida de la L3 (115). Otro parámetro utilizado con estas técnicas es la medición del psoas con indicaciones similares (116).

En cuanto a la calidad muscular también ha sido estudiada con sistemas de detección de imagen como RMN y el TAC, la definición de las imágenes puede detectar la infiltración de grasa, lo que puede llevar a conclusiones acertadas a cerca de la calidad del músculo (110).

Prueba de la dilución de la creatinina: la creatina además de producirse en los riñones e hígado, puede adquirirse mediante una dieta en la que abunde la carne. La creatina en forma de fosfocreatina, se utiliza en el metabolismo energético muscular y la sobrante es excretada por orina. Esta tasa puede ser una medida muy interesante que se asocia a la composición muscular total (116, 117).

También se ha aconsejado el uso del ultrasonido como técnica muy útil por su facilidad de uso, economía y portabilidad, por lo que puede ser un instrumento muy útil para determinar tanto la cantidad como la calidad muscular. Mediciones en torno al cuádriceps, tanto de su sección como del grosor del músculo pueden hacerse en pocos minutos, lo que puede ser una buena herramienta en la práctica médica (118).

IV. ÓXIDO NÍTRICO (NO) – CITRULINA

IV.1. Óxido Nítrico

El NO es un importante mensajero biológico, que es clave en la señalización celular (119). Una sustancia muy sencilla que difunde con facilidad por todas las membranas, lo que la hace muy eficaz en su utilización. Como vasodilatador el NO es muy potente, aumenta el flujo sanguíneo y la respiración mitocondrial, haciéndose más evidente durante el ejercicio (120). El aumento de NO también puede ser positivo a nivel muscular mejorando la absorción de la glucosa, la contractibilidad y la activación de células satélite para reparar las fibras deterioradas (121).

La identificación del NO como factor relajante derivado del endotelio, supone un avance importante en el desarrollo y estudio de la vía de la L-arginina y el NO. El descubrimiento de la síntesis de NO a partir de la L-arginina con la obtención de citrulina (CIT), abre un inmenso campo de investigación que trasciende más allá de la regulación de la tensión arterial y del funcionamiento del músculo (122). (Figura 4)

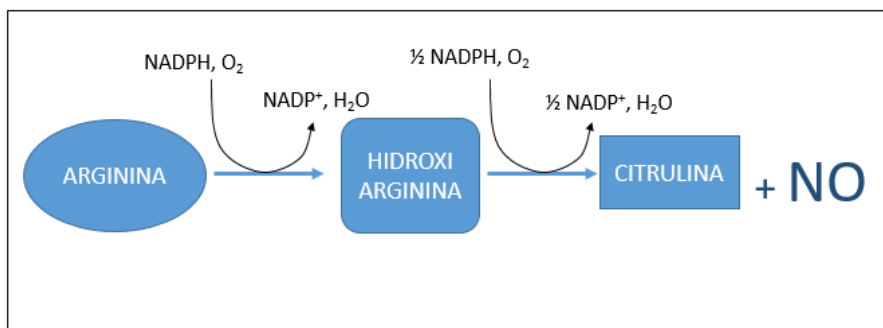


Figura 4: Biosíntesis del óxido nítrico, ambos pasos están catalizados por el óxido nítrico sintetasa. El nitrógeno del NO proviene del grupo guanidino de la arginina. NADP-NADPH: La nicotinamida adenina dinucleótido fosfato forma oxidada y reducida; NO: óxido nítrico.

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

La activación de los mecanismos derivados de la acción del NO se realiza a través de la guanilato ciclasa soluble, receptor celular asociado a una vía de señalización intracelular. A continuación, este produce el aumento de la concentración de un segundo mensajero en las rutas de transducción celular, el guanósín monofosfato (GMP) desencadenándose las acciones propias del NO, como vasodilatación, inhibición de la agregación plaquetaria y resto de las acciones referidas al NO. Además, el NO tiene otro objetivo importante en la mitocondria que es la citocromo c-oxidasa, enzima que interviene en la fosforilación oxidativa mitocondrial. La acción de NO es de inhibición de esta enzima, pero sufre competitividad con los niveles de O₂. La afinidad del NO con la citocromo c- oxidasa es mayor que con el O₂, lo que lleva a pensar que el NO es un regulador de la bioenergética celular. Regula el consumo de oxígeno y la disminución del flujo de electrones a través de la cadena de transporte de las mitocondrias. Este hecho lo relaciona con la patología celular a nivel mitocondrial (123, 124).

La enzima óxido nítrico sintetasa (NOS), unida a la calmodulina y activada por el Ca²⁺, convierte L-arginina en CIT, con la participación de NADPH como fuente de electrones y en presencia de O₂. La oxidación se produce en dos etapas, liberando NO en el proceso. El NO, en ciertas condiciones puede reaccionar con aniones superóxido (O₂⁻) para formar la molécula tóxica peroxinitrito (ONOO⁻), lo que provoca estrés oxidativo y pérdida de fibra muscular (Figura 3) (48, 125). Por el contrario, según las condiciones celulares, puede tomar otro camino y realizar funciones de señalización celular encaminadas al estímulo de células satélite y desarrollar un proceso de reparaciones o regeneración de fibras musculares. (Figura 5)

IV.2. Producción de ROS y NO en el músculo esquelético durante la actividad contráctil

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (RNS) juegan un papel importante en la fisiología de los sistemas biológicos. Los ROS se producen en la célula a través de múltiples fuentes, siendo el sitio de mayor producción la mitocondria. En cuanto a las RNS la mayor producción la realiza la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS). La producción de NO se lleva a cabo por una serie de reacciones en las que interviene la ARG que pasa a CIT (48, 68, 69). (Figuras 4 y 5).

Durante el ejercicio hay un aumento considerable de la producción de ROS y RNS, seguramente la mayor producción se lleva a cabo a nivel muscular, pues la gran demanda de energía, aumenta el nivel de reacciones encaminadas a su producción (31, 126).

La participación de ROS y RNS en la función contráctil de las fibras musculares esqueléticas es importante pues intervienen en la generación de fuerza y en la fatiga muscular. Es decir, realizan una acción de modulación de la función contráctil. El NO endógeno realiza una función tónica en el músculo no fatigado. Mientras que la disminución de NOS o directamente de NO produce un aumento de la fuerza submáxima. Las ROS también van a ejercer su acción sobre la contracción muscular de manera que un aumento de su estímulo puede reducir el nivel de fuerza y una disminución de su activación aumenta la fuerza. Como se puede observar, existe un equilibrio muy fino entre las ROS y RNS que se generan en el músculo durante la contracción muscular y los antioxidantes, ejerciendo una modulación clave en la función muscular (70, 98).

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

La óxido nítrico sintetasa neural (nNOS) es la enzima fundamental productora de NO en las fibras musculares, su expresión tiene un papel clave en la señalización de la mecanotransducción provocada por la tensión muscular. Se expresa sobre todo en las fibras lentas y en las rápidas al nacer. Se localiza en las zonas donde se produce la trasmisión de la fuerza asociada a la distrofina (127, 128). La nNOS, fuente primaria de NO muscular, disminuye en procesos de desgaste muscular y atrofas de distintas causas como en la sarcopenia.

En situaciones de menor expresión de nNOS se produce un aumento de la proteólisis mediada por la calpaína, proteasa dependiente del calcio. Si la calpaína en condiciones normales se encuentra S-nitrosilada, cuando le falta el estímulo de nNOS se reduce la S-nitrosilación, se activa la expresión de las calpaínas que escinden moléculas del sustrato en muy pocos sitios específicos, pero pueden dirigir fragmentos al sistema ubiquitina-proteasoma, poniendo en marcha la proteólisis. Sin embargo, con una expresión de nNOS estable, se produce una restauración de la nitrosilación de la calpaína y evita así, los procesos degenerativos (31, 129).

La pérdida de nNOS provocada por el envejecimiento, puede afectar a la perdida de fibras de músculo esquelético y a una disminución funcional a través de distintos mecanismos independientes de la modulación del NO, algunos dependientes de la calpaína y otros independientes de esta, como por ejemplo la aparición de defectos en la estructura sináptica en las uniones neuromusculares (120, 131, 132).

Por su parte, la óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) actúa como mediador en situaciones relacionadas con procesos inflamatorios y de pérdida de masa muscular, actuando como mediador del TNF- α (133). Esta enzima es

producida por muchos tipos de células, incluidas las fibras musculares. En respuesta a los estímulos del TNF- α , conduce a la producción de NO y al desgaste muscular (134). También se encuentra un aumento de los niveles séricos de otras citoquinas como IL-6, lo que indica el estado proinflamatorio que se produce. Este proceso inflamatorio se cree que es el resultado de la regulación positiva del factor de transcripción factor nuclear kappaB (NF- κ B) un regulador de la respuesta inmune que junto a la proteína activadora 1 (AP1) actúan en la expresión de enzimas antioxidantes como CAT y SOD, contrarrestando la acción del estrés oxidativo. Lo que indica que iNOS puede jugar un papel importante en el desgaste muscular y en la patología de la sarcopenia (135, 136).

Los efectos causados por el estrés oxidativo producido por las citoquinas inflamatorias dependen en gran medida de la expresión iNOS. Se ha visto que con un tratamiento con nitro-L-arginina, inhibidor de la actividad iNOS, se produce una disminución del desgaste muscular. Esto indica que probablemente iNOS sea el mediador del estrés oxidativo iniciado por el TNF- α (137). (Figura 5)

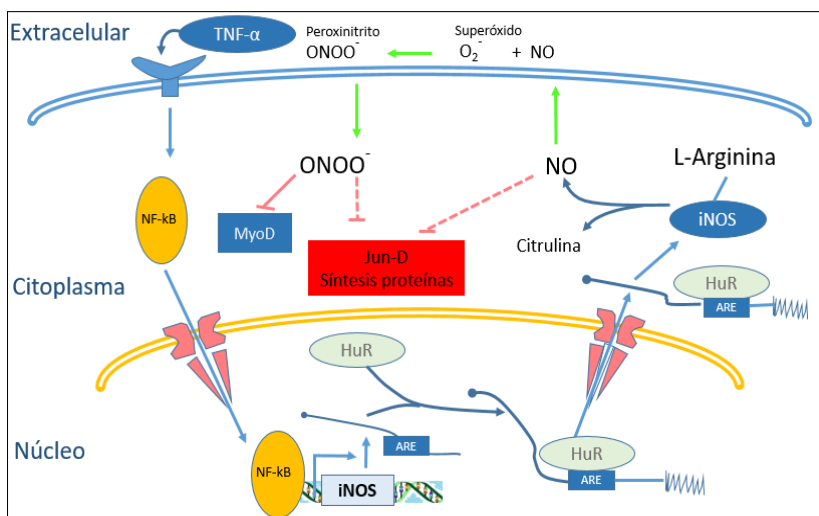


Figura 5: Mecanismo de desgaste muscular inducido por iNOS.

*ARE: Adenilate/Uridilate rich elements; HuR; Antígeno humano R;
INOS: Óxido nítrico sintasa inducible; Jun-D: Factor transcripción JunD
(Proteína codificada por el gen); MyoD: Antígeno de diferenciación
miogénica 1; NF-kb: Factor de transcripción nuclear kB; NO: Óxido nítrico;
ONOO: Peroxinitrito.*

IV.3. Ciclo de la urea

El ciclo de la urea descubierto por Hans Krebs y Kurt Henseleit en 1932, se realiza en las células hepáticas que recogen todos los iones amonio del resto del cuerpo, dando lugar a la urea que es transportada después a los riñones para su eliminación.

Este ciclo se forma a partir del metabolismo de los aminoácidos y ante la necesidad de eliminar los componentes nocivos resultantes de su metabolismo (Figura 7).

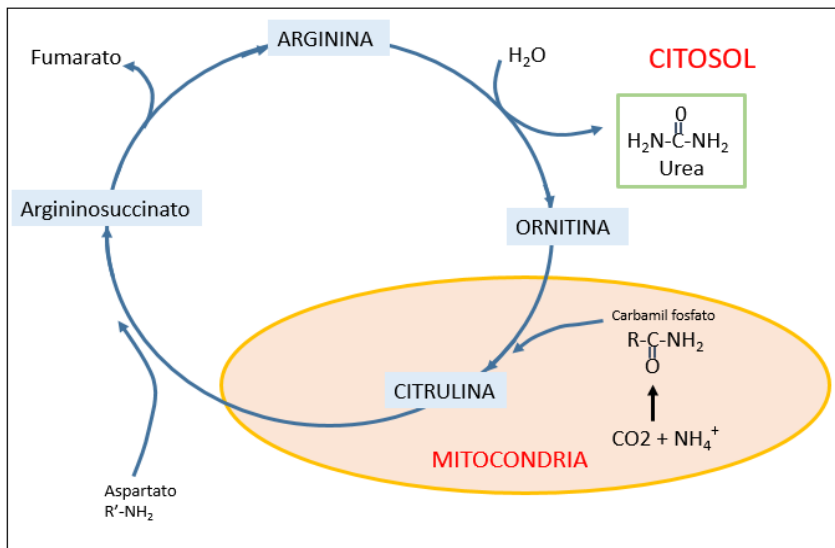


Figura 6: Ciclo de la urea, a partir de la atracción de los iones amonio, formación de Urea para ser eliminada a través del riñón.

El ciclo se realiza en varias etapas enzimáticas, de las cuales destacamos la 2ª en la que se produce la introducción del primer átomo de nitrógeno. El carbamoil fosfato dona el carbamoil a la ornitina, formando otro compuesto, la Citrulina, esta se libera de la mitocondria hacia el citosol. En la 4ª etapa, el argininosuccinato da lugar a la Arginina y fumarato libre, y en la 5ª se lleva a cabo producción de urea por medio de la arginasa. La ARG puede ser dividida para formar urea y ornitina. La primera es eliminada a nivel renal y la ornitina puede ser transportada a la mitocondria para seguir cebando el ciclo (138).

IV.4. Las células satélite

Las células satélite (CS) se localizan entre la lámina basal y el sarcolema dentro de las fibras musculares. Estas células se activan y proliferan en respuesta a estímulos como el ejercicio físico, las lesiones o el estrés mecánico. Son los principales contribuyentes al mantenimiento, reparación y crecimiento muscular.

La proliferación de fibras musculares se produce por una asociación de calmodulina y Ca^{2+} para activar las distintas isoformas de NOS, es decir proteínas NOS neuronales y endoteliales (nNOS, eNOS) para activar la acción enzimática de NOS. Por lo tanto, la actividad de nNOS y eNOS aumenta a medida que la concentración de Ca^{2+} crece, de manera que ambas están preparadas para su regulación simplemente con los cambios en la concentración de Ca^{2+} . Sin embargo, no ocurre lo mismo con la NOS inducible (iNOS) pues esta, a pesar de estar fuertemente unida Ca^{2+} puede activarse a bajos niveles de concentración, incluso por debajo de los basales (139). (Figura 7)

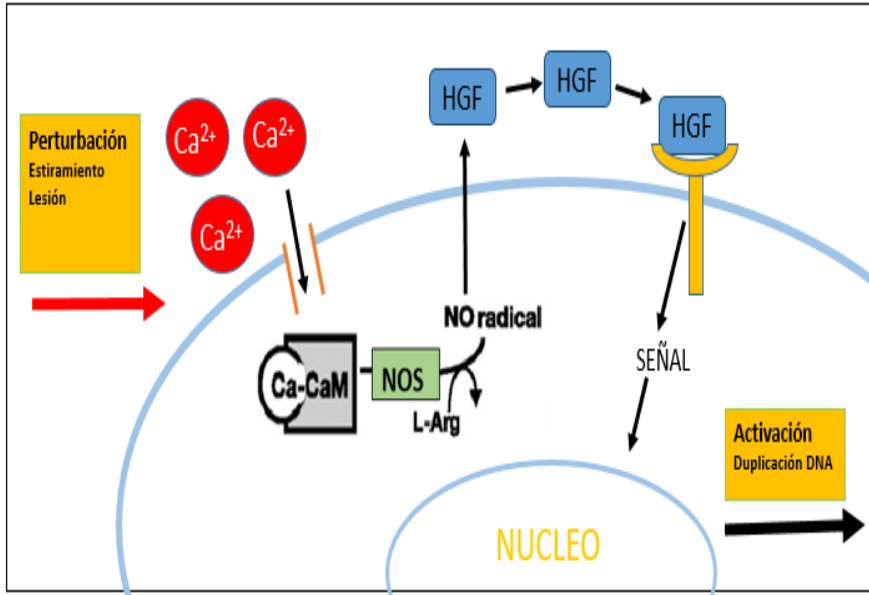


Figura 7: Afluencia de iones de calcio y su unión a calmodulina. Ca^{2+} : Ion Calcio; DNA: ácido desoxirribonucleico; HGF: Factor de crecimiento de los hepatocitos; NO: Óxido nítrico; NOS: Óxido nítrico sintasa.

V.CITRULINA

La Citrulina (CIT) es un aminoácido no esencial, aislado por primera vez de la sandía (*Citrullus vulgaris*), por Koga y Odake en 1914 e identificado por Wada en 1930 (140), cuya síntesis se realiza principalmente en el intestino delgado a partir de Glutamina, glutamato y prolina.

La CIT es uno de los eliminadores más potentes del radical hidroxilo, de hecho, la sandía acumula gran cantidad de citrulina porque no tiene otra forma de eliminación de este radical. El carbono alfa de la citrulina se oxida formando un aldehído después de liberar los grupos amino y carboxilo, (Figura

6) la reacción con los grupos hidroxilo va a aportar una acción protectora para el ADN y enzimas metabólicas susceptibles de ser oxidadas (141, 142, 143).

Existen diferentes fuentes de obtención de citrulina, principalmente de la dieta, pero también el medio interno tiene la capacidad de su síntesis a partir de otros compuestos:

- La glutamina es considerada como la fuente más importante de producción de CIT exógena, siendo un precursor natural de esta (142, 144).

- La CIT puede ser obtenida directamente en la dieta. Se encuentra presente en algunos alimentos, como las legumbres, algunas carnes y especialmente en la sandía.

- La CIT también puede ser obtenida como resultado del metabolismo de la arginina (ARG) mediante la eNOS.

V.1. Metabolismo de la citrulina

La citrulina administrada de forma oral supera la barrera entérica sin precisar la acción de la enzima arginasa, algo que no ocurre con la ARG, pues sobre esta actúa la arginasa reduciendo significativamente la disponibilidad de L-ARG (extracción de primer paso). Una vez superada la barrera enteral, la CIT pasa por el hígado sin sufrir ningún proceso metabólico y alcanza la circulación sistémica (142). El órgano que va a utilizar la CIT del torrente circulatorio es el riñón que aproximadamente utiliza el 83 % de la CIT absorbida en el intestino. En el riñón se produce el ciclo de la urea (Figura 6) con un componente intermedio que es la ARG por la intervención de la argininosuccinato sintetasa y argininosuccinato liasa, de manera que la CIT

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

es una fuente importante de ARG (145, 146). La ARG producida alcanza la circulación sistémica a través de la vena renal y a partir de este momento puede ser utilizada por las células. El aumento de la concentración de L-ARG va a servir como sustrato para que la eNOS produzca NO (147).

La administración de CIT puede usarse para aportar nitrógeno a los distintos tejidos para la homeostasis de las proteínas como precursor de ARG. La glutamina jugara un papel fundamental en el aporte de CIT y por lo tanto de ARG, cerrando el círculo para la producción de NO. Molécula importante en la regulación entre otros de la perfusión de órganos, la función inmunológica y la cicatrización de heridas (148).

El proceso de aporte fundamental de CIT se inicia con el aporte a nivel intestinal y renal de glutamina, lo que implica un transporte de CIT entre órganos. En el estudio de van de Poll MC et al. 2007, (149) investigaron la conversión de glutamina en CIT y ARG. Estos autores concluyeron que el 13 % de la glutamina absorbida en intestino se convierte en CIT. En el hígado se metabolizan tanto la glutamina como la CIT. A nivel plasmático, la glutamina fue la precursora del 80 % de la CIT plasmática que a su vez fue precursora del 10 % de la ARG plasmática (148).

La cantidad de CIT convertida en el riñón es suficiente para cubrir las necesidades de todo el organismo (Figura 8). Este ciclo es fisiológicamente muy importante, pues recicla constantemente CIT y secundariamente mantiene la concentración de ARG y NO (148).

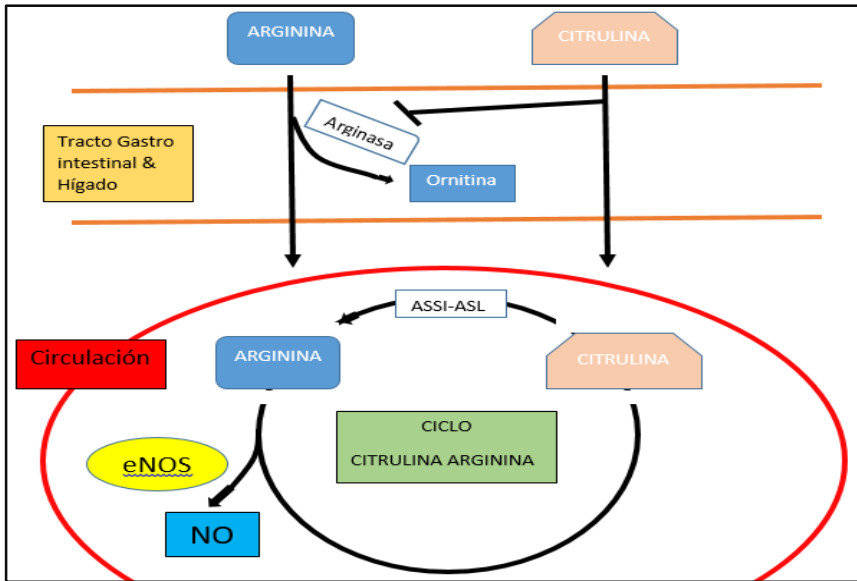


Figura 8: Vías metabólicas de L-arginina (ARG) y L-citrulina (CIT).

ASL: argininosuccinato liasa; ASSL: argininosuccinate lyase ; eNOS: Oxido nítrico sintetasa endotelial; NO: Óxido nítrico

En el hígado la CIT interviene en la eliminación de un componente muy tóxico para las células y en general para el organismo, el amoníaco (NH₃), actuando de intermediario metabólico para obtener otra sustancia no tóxica, la urea. En el ciclo de la urea además se produce un reciclaje de la CIT, suponiendo una mejora en el equilibrio energético y homeostático al reducir el consumo de CIT. (Figura 6)

V.2. Sarcopenia y Citrulina

Numerosos estudios relacionan la administración de CIT con la mejora de la masa muscular esquelética en situaciones de desnutrición. Situación que aparece en personas de edad avanzada y en la sarcopenia (146, 147).

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

Las distintas funciones intracelulares de la CIT, están íntimamente relacionadas al confluir principalmente en el ciclo de la urea, el óxido nítrico y la activación de las cascadas de síntesis proteica. Así, este aminoácido participa en procesos de promoción del metabolismo aeróbico, homeostasis del medio interno mediante la reducción de formación de ROS, modulación de citoquinas proinflamatorias y potenciación de la síntesis y regeneración proteica.

La L-citrulina puede activar indirectamente también la óxido nítrico sintetasa neuronal (nNOS) en el músculo esquelético, esto va aumentando el nivel de NO produciéndose un estímulo de la biosíntesis mitocondrial (147). La óxido nítrico sintetasa inducible (iNOS) puede ser activada también de forma directa por la l-citrulina en el músculo esquelético y de esta manera influir en la síntesis de proteínas a través de la activación de mTOR (150). De manera indirecta también la CIT puede intervenir en iNOS de macrófagos activados aumentando el NO muscular (151).

Por otra parte, la liberación de citoquinas proinflamatorias en las situaciones de estrés celular, hipoxia enfermedades, etc., alteran la homeostasis interna, suponiendo una reducción de la regeneración tisular y un funcionamiento defectuoso del metabolismo celular. Se ha visto que la CIT interviene en los múltiples procesos metabólicos descritos, reduce las concentraciones séricas de IL6, TNF- α y proteína C reactiva (PCR), citoquinas de especial interés ya que se encuentran aumentadas con la edad y el ejercicio físico extenuante (99, 152). La administración de CIT actúa reduciendo el número de leucocitos y de neutrófilos en el torrente circulatorio, pudiendo aumentar la vasoprotección gracias al NO suprimiendo el daño endotelial (153).

V.3. Citrulina (CIT) y rendimiento físico

Diferentes estudios han informado que la suplementación de CIT aumenta la producción de energía aeróbica durante el ejercicio al promover el metabolismo aeróbico (154, 155), mejora la eliminación de amoníaco (NH₃) durante la recuperación del ejercicio, atenúa el dolor muscular después del ejercicio de alta intensidad y aumenta el rendimiento en ejercicios de alta intensidad especialmente en los de fuerza (151, 154).

La CIT tiene beneficios per sé en el metabolismo del óxido nítrico, efecto antioxidante, promoción de la síntesis proteica, efecto antiinflamatorio y promoción del metabolismo aeróbico. Es oportuno mencionar que una de las formulaciones de sus suplementos es el malato de CIT. El malato actúa como intermediario en el ciclo de Krebs, contribuyendo de manera adicional a la promoción del metabolismo aeróbico mediante el cebado de este ciclo (156). Se ha demostrado que su suplementación disminuye los niveles de lactato en sangre (157). Se han medido los niveles de NO tras la administración de CIT, demostrando en distintos protocolos de administración su aumento, produciendo como consecuencia un aumento de la oxigenación muscular (158, 159, 160).

En relación con la tolerancia al ejercicio físico, los estudios con suplementos de CIT muestran una mejora en la sensación de fatiga muscular (158), retrasando su aparición, así como disminución del dolor muscular referido durante y en las 48 horas posteriores al ejercicio (158). Además, se ha visto como la CIT aporta mejoras en la fuerza muscular y en la velocidad de contracción muscular respecto a un entrenamiento sin este suplemento (159, 160). También la síntesis proteica se ve aumentada significativamente en los protocolos que suplementan con CIT, especialmente a poblaciones

CAPITULO I. INTRODUCCIÓN

diana con un déficit protéico de base, como son las personas mayores (161, 162).

La suplementación de CIT se ha llevado a cabo en muy diversos ámbitos. Se ha estudiado su influencia en ejercicios de fuerza, resistencia, en distintos deportes: atletismo, tenis, halterofilia, ciclismo, voleibol, etc. Así como en distintas poblaciones, atletas de élite, adultos sanos y ancianos. La mayoría de los estudios diseñan intervenciones puntuales de altas dosis de carga (6-8 g/ dosis) previas a la realización de ejercicio y durante un corto periodo de seguimiento, la mayoría de ellos entre 1-2 semanas (158). Sin embargo, pocos estudios realizan exposiciones de mayor duración y con unas dosis mantenidas y pequeñas de suplemento de CIT.

HIPOTESIS DE TRABAJO

VI.HIPOTESIS DE TRABAJO

La sarcopenia afecta a las personas mayores. Es importante ser consciente de su existencia, ya que el abordaje que realicemos sobre ella va a ser determinante para la calidad de vida y la salud de los individuos. Su instauración puede darse de forma agresiva y con gran repercusión sintomática si se opta por una actitud conservadora y sedentaria. Por el contrario, se puede retrasar el avance y sus consecuencias, cuando se utilizan las herramientas adecuadas.

Una de las formas más eficaces de retrasar los síntomas de la sarcopenia es la realización de ejercicio físico. Por otra parte, las personas mayores pueden sufrir un cierto estado de desnutrición “fisiológica” a veces acompañada con pérdida de peso, o, por el contrario, al sufrir un cambio en su actividad diaria hacia un estado más sedentario, pueden experimentar un aumento de peso llegando a la obesidad, con una disminución de la masa muscular.

Varios estudios (125, 163, 164) han abordado la suplementación con aminoácidos como la citrulina, obteniendo resultados muy positivos sobre la mejora del rendimiento deportivo. Sin embargo, encontramos pocos estudios sobre este tipo de intervención en las personas mayores. Pretendemos estudiar la repercusión del ejercicio físico asociado a la suplementación con malato de citrulina en este grupo poblacional, adaptando el diseño a las características de los participantes (no son deportistas de élite, ni siquiera amateurs), sabiendo de antemano, que en ellos la mejora en el rendimiento físico va a ser difícil de contrastar, pues no sería conveniente realizar los estudios específicos, que se realizan en los deportistas, para medir este tipo de respuesta.

Así mismo, nos proponemos estudiar los efectos que tiene el ejercicio físico sobre las personas mayores suplementando la actividad con aminoácidos, en este caso con malato de citrulina para abordar los dos puntos clave que consideramos que suponen un punto de inflexión en el tratamiento de la sarcopenia: el ejercicio adaptado y el correcto aporte de proteínas a la dieta.

Nuestra hipótesis principal es, que el aporte de citrulina como suplemento dentro de un programa de ejercicio físico estructurado y dirigido:

- 1.- Mejorará los parámetros de condición física establecido (fuerza, velocidad de la marcha y resistencia),
- 2.- Reducirá los marcadores de riesgo cardiovascular (presión arterial, % grasa corporal, perfil lipídico)
- 3.- La tolerancia/adaptación al ejercicio físico se verá reflejada en la mejora de los parámetros analíticos (especialmente de estrés y daño muscular).

OBJETIVOS

VII. OBJETIVOS

VII.1. Generales

Estudiar las variaciones de los parámetros biológicos (hematológicos, bioquímicos y hormonales) relacionados con la actividad física. Todo ello complementado con el estudio del efecto de la suplementación de citrulina (CIT) en personas sanas (> de 60 años), sobre el daño muscular, lo que permitirá la elaboración de un protocolo de actividad física adecuado para personas de este rango de edad.

VII.2. Específicos

1.- Estudio de la Influencia de la CIT sobre las enzimas musculares en individuos (mayores de 60 años) sometidos a un programa de ejercicio físico planificado.

2.- Valoración de la influencia de la CIT sobre la mejora de la fuerza en individuos (mayores de 60 años) sometidos a un programa de ejercicio físico planificado.

3.- Análisis de la influencia de la CIT en la mejora de la resistencia en individuos (mayores de 60 años) sometidos a un programa de ejercicio físico planificado.

4.- Estimación de la influencia de la CIT sobre la velocidad de la marcha en individuos (mayores de 60 años) sometidos a un programa de ejercicio físico planificado.

MATERIAL Y MÉTODOS

VIII.MATERIAL Y MÉTODOS

VIII.1. Características de la muestra

En el estudio participaron 30 sujetos (20 mujeres y 10 hombres) con un rango de edad de 60 a 75 años, cuyas características antropométricas se muestran en la tabla 8 y 9.

Tabla 8: Características antropométricas de los sujetos.

	Muestra	Estatura (cm) (media)	Edad (años) (media)	Peso (kg)	IMC
Mujeres	20	158 +/- 0,07	66,15 +/- 4,5	63+/- 8,73	25,13 +/- 3,07
Hombres	10	171 +/- 0,04	65 +/- 3.97	77 +/- 8,45	26,17 +/- 2,43

Tabla 9. Composición grasa, presión arterial y frecuencia cardiaca.

	% Grasa	Grasa Total (kg)	P. Sistólica (mmHg)	P. Diastólica (mmHg)
Mujeres	32,86+/- 5,85	21,11 +/-6,29	134+/- 20,4	79,95 +/- 11,01
Hombres	23,76 +/- 5,05	18,47 +/-5,2	135,67 +/-17,27	78,91 +/- 10,91

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica (CEIC) de la Universidad de León, (ETICA-ULE-021-2020) y todos los sujetos dieron su consentimiento por escrito. Todos los participantes realizaban actividad física con regularidad en los grupos de mayores de 60 años de las Actividades del Excmo. Ayuntamiento de Soria.

Antes de comenzar el estudio se lleva a cabo una revisión de la historia clínica mediante la colaboración de su médico de familia y de los centros de atención primaria a los que estaban adscritos para excluir a los pacientes que no cumplieran con los criterios de inclusión/exclusión.

El estudio se realizó en una ciudad pequeña, Soria, es decir, contamos con muy poca población lo que implica dificultades para conseguir un grupo mayor de voluntarios. Soria es una ciudad de la comunidad autónoma de Castilla y León. La provincia tiene una población de 89.738 habitantes, estando el 44,4 % en la capital.

La evolución poblacional a lo largo del siglo pasado ha tenido un componente regresivo, manteniéndose o con ligero descenso a lo largo del presente siglo. (Figura 11)

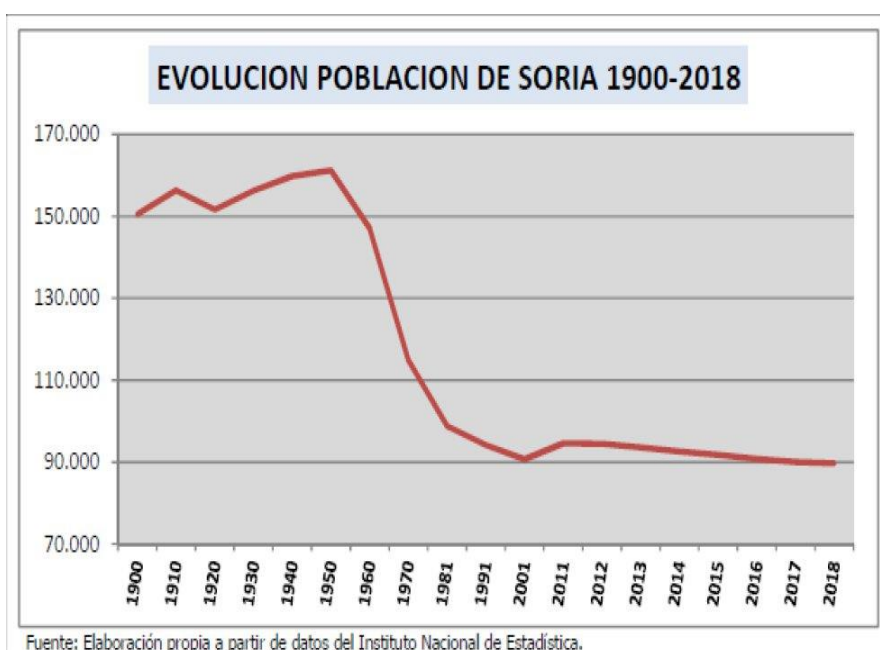
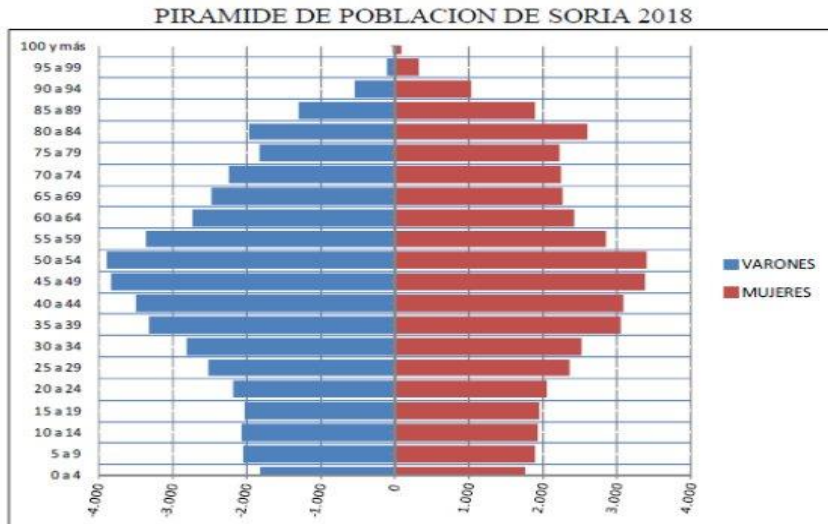


Figura 9: Evolución de la población en la provincia de Soria desde el año 1900 hasta 2018. En cuanto a la distribución por edades de la población sigue un patrón similar al resto de España.



Fuente: www.ine.es

Figura 10: Pirámide poblacional de Soria

En cuanto a la capital soriana, los datos poblacionales son los que siguen, 39.398 habitantes, de los cuales 18.579 son hombres y 20.819 mujeres.

La sociedad soriana no está acostumbrada a realizar estudios de estas características, con utilización de sustancias farmacológicas, dificultad añadida a la hora de proponer estudios e investigaciones y tener voluntarios. En el grupo de estudio tras la exposición de nuestra propuesta los participantes se mostraban interesados en colaborar, pero al saber que se debía tomar unos productos, aunque fueran aminoácidos, el entusiasmo desapareció y se transformó en negación. En un entorno natural como el que rodea a Soria, con una alimentación, muy en consonancia con la dieta mediterránea, el hecho de ingerir “pastillas” provoca un rechazo considerable. A pesar de ello pudimos reclutar estos 30 participantes.

VIII.2. Criterios de inclusión

- Personas mayores de 60 años.
- Personas sanas (No afectados por algún criterio de exclusión).

VIII.3. Como criterios de exclusión se contemplaron los siguientes

Antecedentes de:

- Demencia (tanto sospecha del MAP, entorno, como diagnosticada).
- EPOC moderado/grave, Bodex C o D.
- Limitación funcional escalas Barthel inferior a 100 (puntuación máxima) y Lawton-Brody inferior a 8 (valor máximo).
- Infarto agudo de miocardio (reciente 3-6 meses) o angina inestable.
- Arritmias auriculares o ventriculares no controladas.
- Aneurisma disecante de aorta.
- Estenosis aórtica grave.
- Endocarditis / Pericarditis aguda.
- Hipertensión arterial no controlada (> 180/100 mm Hg).
- Enfermedad trombo-embólica aguda.
- Insuficiencia cardíaca aguda/crónica NYHA >II.
- Insuficiencia respiratoria aguda/crónica.
- Hipotensión ortostática no controlada.
- Diabetes mellitus con descompensación agudas o hipoglucemias no controladas.
- Fractura reciente (último mes).
- Suplementación previa de aminoácidos u otros compuestos nutricionales para la mejora del rendimiento físico.

- Cualquier otra circunstancia que su médico considere que impide la realización de actividad física.

VIII.4. Diseño de la investigación

Se realizó un ensayo clínico, piloto, aleatorizado a doble ciego programado para una duración de 6 semanas de suplementación con citrulina (CIT).

La semana previa al inicio, se realizaron todas las pruebas propuestas, tanto a nivel analítico de laboratorio, como pruebas de valoración física y de calidad de vida. Estas pruebas se repitieron al final de las 6 semanas de seguimiento.

Se llevó a cabo un registro de las actividades que se realizaban en cada una de las sesiones de entrenamiento para determinar y analizar el tipo de actividad y valorar el nivel de intensidad, así como el catálogo de ejercicios utilizado en cada una de las clases. De esta manera ajustamos los tiempos de trabajo en cada uno de los grupos y se hizo una programación homogénea para todos ellos. La distribución de tiempos y cargas de trabajo se expone en la tabla 10.

Tabla 10: Distribución de cada sesión de actividad física, duración de cada parte, contenido de trabajo en cada una de las partes, objetivo a conseguir y la valoración del esfuerzo.

Partes de la sesión	Tiempo	Contenido	Objetivo	Valoración esfuerzo 1 a 10
Calentamiento	10 minutos	Movilidad general Juegos Desplazamientos ligeros	Activar sistema cardiovascular y musculo-articular	4
Equilibrio	5 minutos	Ejercicios en bipedestación y monopódales	Desarrollar percepciones coordinativas	3
Resistencia Aeróbica	10 minutos	Marcha Carrera suave	Desarrollar sistemas de aporte de energía aeróbica	7
Fuerza	20 minutos	Ejercicios sobrecarga, con balones, mancuernas, gomas, steps,	Desarrollar la estructura muscular	8
Movilidad flexibilidad	10 minutos	Estiramientos generales y movilidad articular amplia	Mejorar la amplitud de movimientos	5
Vuelta a la calma	5 minutos	Ejercicios de contracción-descontracción y de relajación	Recuperar progresivamente la vuelta a la normalidad	2

Una vez establecidos los requisitos necesarios para llevar a cabo el estudio y viendo su viabilidad, firmamos un convenio con el Excmo. Ayuntamiento para el uso de sus instalaciones y sus grupos de Actividades Deportivas para Mayores.

El reclutamiento de voluntarios se realizó en las salas en las que se impartían las clases. Se entregó un documento informativo que recoge todos los aspectos relacionados con el estudio, desde tipo de ejercicios a realizar hasta como llevar a cabo el estudio, plan de distribución de los productos a estudiar, efectos esperados por estos productos, así como posibles efectos adversos. Además, se realizó una exposición oral a la población diana desarrollando estos aspectos y resolviendo las dudas que surgían. Se dejó una semana de plazo para consultar posibles dudas sobre el proyecto y comprobar la ausencia de criterios de exclusión.

Se pidió a los voluntarios un consentimiento firmado personalmente (Anexo I y II) para poder participar en el estudio. A continuación, los sujetos fueron asignados al azar en los distintos grupos, para el tratamiento o el control utilizando un generador de números aleatorios. Se realizó la distribución del tratamiento mediante ocultación, el cegamiento se reveló después del ensayo.

VIII.5. Toma de suplementos

Cada semana, se repartieron las capsulas correspondientes en bolsas numeradas con cierre hermético. El último día de trabajo de la semana se repartieron las dosis correspondientes a la siguiente semana para cada uno de los integrantes, de manera que el lunes, primer día de la semana, los participantes dispusieran del producto necesario. Cada bolsa contenía el número exacto de capsulas para toda la semana.

El grupo 1 recibió 2 cápsulas de 1 g de celulosa, por cada día de la semana. El grupo 2 recibió 2 cápsulas de 1 g de citrulina, por cada día de la

semana. La toma de los suplementos se realizó durante el periodo de 6 semanas de seguimiento con una pauta de 2 cápsulas diarias 30 minutos después del desayuno.

VIII. 6. Procedimiento de recogida de datos

La recogida de datos se realizó en 2 fases: basal y post intervención. Se compararon parámetros sanguíneos, antropométricos, de aptitud física, calidad de vida y dieta. Las analíticas sanguíneas se realizaron, antes y después del periodo de estudio y se valoraron en un laboratorio de referencia homologado. Los horarios y condiciones de recogida de datos fueron iguales en ambas situaciones.

VIII.7. Parámetros antropométricos

VIII.7.1. Antropometría

En lo referente a parámetros antropométricos, se registraron 15 minutos después de la extracción sanguínea. Se registró la talla mediante una cinta métrica y peso, índice de masa corporal (IMC), % grasa corporal mediante el bioimpedanciómetro Tanita BC-418MA. (Figura 11)



Figura 11: Medición antropométrica con la báscula de bioimpedancia Tanita BC-418MA.

Se midió la presión arterial y frecuencia cardíaca mediante el esfigmomanómetro digital “OMRON M2 BASIC HEM-7120.” Para ello se realizaron 3 mediciones separadas con un intervalo de 5 minutos mientras el voluntario permanecía sentado, con la espalda apoyada en la pared, los brazos apoyados sobre la mesa y manteniendo un ambiente sin ruidos. Se registró la cifra más baja de las 3 medidas. (Figura 12)



Figura 12: Toma de tensión arterial con el esfigmomanómetro digital OMRON M2 BASIC HEM-7120.

Posteriormente se dejó un descanso posterior de 30 minutos, tiempo empleado en cumplimentar las encuestas antes de iniciar las pruebas físicas. Para este cometido contamos con la inestimable ayuda de los alumnos de TAFAD del IES Virgen del Espino. Participaron 24 alumnos lo que redujo tiempos pues cada alumno se encargó de un participante, de manera que se rellenaron 24 encuestas en unos 10 minutos, así hasta terminar con todos los encuestados.

VIII.7.2. Parámetros de aptitud física

Se determinó la realización de 4 pruebas para explorar las distintas áreas de aptitud física: resistencia, equilibrio, y fuerza.

1. *Fuerza de prensión de la mano*

Se situó a los voluntarios con su extremidad superior dominante en extensión, estando el brazo pegado al cuerpo y la mano en situación indiferente de prono-supinación. Tras comprobar un acoplamiento adecuado entre la mano y el dinamómetro, se pidió que realizaran un gesto de “apretón de mano” de forma suave y creciente hasta alcanzar su máximo. La prueba se repitió hasta tres veces, partiendo siempre de una relajación previa del sistema muscular flexor, pero sin que el sujeto llegara a perder el contacto con el dinamómetro. Se registró el valor máximo alcanzado en los tres intentos. El dispositivo utilizado fue un dinamómetro digital JAMAR (0-90KG). (Figura 13)



Figura 13: *Dinamómetro manual para la medición de la fuerza de prensión.*

2. Velocidad de la marcha

Se midió una distancia de 4 metros instalando unas células fotoeléctricas en ambos extremos. Para minimizar la variabilidad, se pidió a los voluntarios que comenzaran a caminar 5 metros antes del área cronometrada a su velocidad habitual de marcha. El tiempo empleado fue registrado por las citadas células en segundos y centésimas. (Figura 14)



Figura 14: *Células fotoeléctricas par el cronometraje de la velocidad de desplazamiento.*

3. Test de 6 minutos.

Se pedía a los participantes que dieran vueltas a una pista de atletismo homologada por la Real federación española de atletismo (RFEA) de 400 metros durante 6 minutos. La prueba se podía realizar caminando, corriendo o alternado ambas estrategias, pero instando a los voluntarios a que debían recorrer la máxima distancia posible. La distancia recorrida fue cuantificada en metros.

4. Test de fragilidad Short Physical Performance Battery (SPPB).

Test validado internacionalmente para valorar la fragilidad. Consta de 3 pruebas a las que se asigna una puntuación. Las pruebas miden el equilibrio con tres posiciones diferentes, la velocidad de marcha y la fuerza de piernas. La suma de las puntuaciones otorgadas determina el nivel de fragilidad del sujeto. Un sumatorio de las puntuaciones de esta prueba inferior a 10 predice por sí mismo riesgo de fragilidad, discapacidad y sarcopenia. A continuación, se describe la realización de las pruebas:

a. Test de “equilibrio”

Se valora la capacidad para mantener una posición determinada durante, al menos, 10 segundos en las siguientes posiciones (figura 15):



Figura 15: Test de equilibrio, bipedestación, semitándem y tándem.

- Bipedestación, es decir, pies en paralelo con una separación equivalente a la anchura de los hombros. Puntuación 1 punto si se superan los 10 segundos sin moverse. (Figura 15)
- Posición de semitándem, un pie adelantado con respecto al otro de manera que el talón se encuentre en contacto con el primer dedo del otro pie. Puntuación 1 punto si se superan los 10 segundos sin moverse.
- Posición de tándem, un pie delante del otro, la punta del pie atrasado se coloca en contacto con el talón del pie adelantado. Puntuación, tiempo mayor de 10 segundos: 2 puntos, entre 3 y 9.99 segundos: 1 punto, e inferior a 3 segundos: 0 puntos)

b. Test de “velocidad de la marcha”.

Como ya se ha expuesto anteriormente, recorrido de 4 metros y medición del tiempo empleado en recorrerlo. Puntuación, 4 puntos para

tiempos inferiores a 4.82s, 3 puntos para tiempos entre 4.82-6.20s, 2 puntos entre 6.21-8.70s y 1 punto tiempos superiores a 8.7s.

c. Test de “sentadillas”

Se cronometró mediante un cronometro Cassio el tiempo empleado en realizar 5 sentadillas completas desde posición de sedestación sin permitir ayuda de los brazos a la mayor velocidad posible. Todos los individuos utilizaron el mismo modelo de silla con una altura de 45 cm de distancia libre al suelo. La puntuación, 4 puntos para los sujetos que realizaban el ejercicio completo en menos de 11.16s, 3 puntos para un tiempo entre 11.20s y 13.69s, 2 puntos para un tiempo comprendido entre 13.70s y 16.69s, 1 punto para tiempo superiores a 16.70s y 0 puntos si no eran capaces de realizar el test.

VIII.7.3. Valoración de la actividad física diaria, hábitos nutricionales y calidad de vida:

Para realizar un registro del nivel de actividad física realizado por cada participante en su día a día, se pidió a los participantes que completaran el cuestionario validado de actividad física del proyecto “SUN” (165) obteniendo el sumatorio en unidades de tiempo y METS. Este cuestionario consta de 6 preguntas.

Las 4 primeras preguntas recogen información cuantitativa acerca de la intensidad de ejercicio habitual, tiempo dedicado a su realización, velocidad de marcha habitual y número de pisos subidos por escalera al día. Las preguntas 5 y 6 recogen información cuantitativa sobre el tipo de actividad (tanto tareas domésticas como deportes) y el tiempo diario dedicado a cada

actividad (distinguiendo entre semana y fin de semana) durante el último año. (Anexo III y IV) (Figura 16)



Figura 16: Recogida de datos para las encuestas pasadas, con ayuda de estudiantes voluntarios de TAFAD del IES “Virgen del Espino”.

VIII.7.4. Valoración de los hábitos nutricionales

Los participantes completaron un cuestionario validado sobre hábitos nutricionales de acuerdo a lo indicado en el estudio “PREDIMED” (166), predictor de la adhesión a la dieta mediterránea. Consta de 14 preguntas que exploran el consumo de aceite de oliva, raciones de verduras, huevos, fruta, carnes rojas, pescados, legumbres, mantequilla, alcohol, refrescos, bollería e hidratos de carbono. (Anexo V) También completaron un calendario de alimentación. (Anexo VI)

VIII.7.5. Valoración de la calidad de vida

Se registró un cuestionario en el que se exploraba el área de la calidad de vida. Se realizó mediante el cuestionario WhoQOL-BREF (167), que consta

de 26 preguntas de percepción subjetiva del “disfrute” de las actividades diarias y el afrontamiento de la vida de los sujetos, graduando cada una del 1 al 5 en función del grado de satisfacción de cada actividad. (Anexo VII)

VIII.7.6. Pruebas analíticas

Se analizaron parámetros de daño muscular (CK, enzimas hepáticas), metabolismo de lípidos (LDL, HDL, colesterol, triglicéridos y la relación triglicéridos/glucosa o índice TYG), respuesta de hormonas del estrés (cortisol y testosterona) y de subpoblaciones de células sanguíneas de la serie blanca, así como la adaptación hematológica a la intervención realizada.

La primera extracción se realizó el día en el que los participantes comenzaban el estudio y la segunda se extrajo tras la intervención, pasadas 6 semanas. Las extracciones se realizaron a partir de las 08:00 horas estando los participantes en ayunas de 12 horas. Para ello contamos con la colaboración de profesionales de Enfermería Titulados, lo que facilitó la recogida de muestras y garantizó la “buena praxis”. El sistema de extracción utilizado fue mediante “vacutainer” con tubos de 10 ml para suero, 5 ml y 3 ml con EDTA, permaneciendo los pacientes sentados. Se almacenaron en contenedores refrigerados a una temperatura de 4º C. (Figura 17)

Se realizó hematometría mediante un contador hematológico System Coulter Counter MAX-M, para el análisis de los leucocitos, monocitos, linfocitos, hematíes, hemoglobina y hematocrito. La ferritina se analizó mediante el kit comercial IRMA (Bio Rad®) mediante alícuotas de suero duplicado. Para el hierro sérico se utilizó el analizador Synchron Cx (Beckman®). Para los parámetros de bioquímica básica (LDH, enzimas hepáticas, glucosa urea, colesterol total, LDL, HDL) se utilizó el analizador

CAPITULO III. MATERIAL Y MÉTODOS

Architect ci8200® y para las hormonas (testosterona y vitamina D). Architect 2000 ®.



Figura 17: Inicio de la primera prueba, ordenación de los voluntarios para iniciar la extracción de sangre.

Con respecto a los parámetros sanguíneos estudiados, (tabla 11) se muestra tanto la hematología como la bioquímica y los valores hormonales.

Tabla 11: Parámetros hormonales y hematológicos.

PARAMETROS SANGUINEOS			
HEMATOLOGÍA:	Unidades	BIOQUÍMICA	Unidades
Hematíes	(M/ μ l)	Glucosa	(mg/dl)
Hemoglobina	(g/dl)	Urea	(mg/dl)
Hematocrito	(%)	Creatinina	(mg/dl)
VCM	(fI)	Ácido úrico	(mg/dl)
HCM	(pg)	Colesterol	(mg/dl)

PARAMETROS SANGUINEOS			
Reticulocitos	%	Triglicéridos	(mg/dl)
Plaquetas	K/ μ l	Bilirrubina	(mg/dl)
Hierro	(ug/dl)	GOT	(UI/l)
Ferritina	(ug/ml)	GPT	(UI/l)
Transferrina	(mg/dl)	Fosfatasa alcalina	(UI/l)
CTFH	(ug/dl)	Gamma GT	(UI/l)
Leucocitos	K/ μ l	LDH	(UI/l)
Neutrófilos	%	Aldolasa	(UI/l)
Linfocitos	%	CK	(UI/l)
Monocitos	%	Calcio	(mg/dl)
Eosinófilos	%	Proteínas totales	(g/dl)
		Albumina	(%)
HORMONAS			
Testosterona	(ng/ml)	Vitamina D	(ng/ml)
Cortisol	(ug/dl)		

VIII.7.7. Pruebas estadísticas a utilizar (programa estadístico)

Se comprobó la normalidad de las variables mediante los test de Shapiro Wilks, Kolmogorov-Smirnov y homogeneidad de varianzas de Levene. Se estimaron las frecuencias para las variables categóricas y se calcularon los promedios de tendencia central y la desviación estándar para las variables cuantitativas. Para comparar los grupos se utilizó una prueba de t de Student para muestras paramétricas y test de U de Mann-Whitney para variables no paramétricas. Además, utilizamos la prueba t de Student para muestras pareadas o el test de Wilcoxon (no paramétrico) para variables

CAPITULO III. MATERIAL Y MÉTODOS

cuantitativas para comparar el efecto de la intervención en un mismo individuo. Y para comparar las diferencias entre variables cualitativas de los grupos intervención y el control usamos la prueba chi-cuadrado y la prueba de McNemar para los datos cualitativos pareados. En todos los cálculos el nivel de significación estadística fue $p < 0.05$. El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa STATA 12.0.

Para el cálculo del tamaño muestral, existen estudios con planteamientos similares al nuestro, con suplementos de otros derivados proteicos y poblaciones de características similares. Aplicando los resultados obtenidos en el estudio de referencia "Strategic creatine supplementation and resistance training in healthy older adults" (49), donde se encuentra un incremento de masa muscular en el grupo de intervención de 3 puntos con una desviación estándar de 1,9 y en el grupo control de 0,5 puntos con desviación estándar de 2,1. Si reclutamos un total de 40 participantes, 20 por cada grupo de intervención, esperamos presentar una potencia estadística del 98%, al comparar los grupos de intervención con el control, asumiendo un error alfa de 0.05 a dos colas.

RESULTADOS

IX.RESULTADOS

La presentación de los resultados, ha sido dividida en diferentes categorías, haciendo referencia a las distintas secciones en las que hemos desarrollado el planteamiento de la investigación. Se analizan así los parámetros de aptitud física mediante las distintas pruebas físicas, mediciones antropométricas, parámetros analíticos de daño/regeneración muscular, indicadores de estrés, y el resto de parámetros analíticos correspondientes indicadores de salud mediante el estudio bioquímico y hematológico.

Se muestran valores adscritos a cada categoría de tres formas diferentes:

Valores basales objetivados previos a realizar la intervención

Valores “post intervención” correspondientes a la comparación de los resultados entre los dos grupos tras el periodo de intervención de 6 semanas de duración.

Valores “Diferenciales” que corresponden a haber realizado un análisis post hoc de los valores diferenciales de cada grupo (basal vs post exposición) De esta manera definimos este grupo como la resta del valor del parámetro tras la realización del estudio menos el valor al principio del mismo mostrando como resultado el incremento con valores positivos y viceversa. Esto nos ayuda a valorar la magnitud del cambio en los parámetros analizados según grupos de intervención tras el periodo de seguimiento.

IX. 1. Características de participantes

En la tabla 12 se presentan las características basales de ambos grupos y su análisis. Se reclutaron 20 participantes en cada grupo de asignación:

Tabla 12: Edad y sexo.

	Placebo	Citrulina	p
Edad (años)	67 (60-71)	65 (62-67)	0.363
Sexo (%mujeres)	90	55	0.055

Debido a las dificultades de reclutamiento la distribución del sexo no resultó homogénea.

IX.2 “Valores de hematología hierro y ferritina”

Tabla 13: Valores basales hematología, hierro y ferritina.

	Placebo	Citrulina	p
Hemoglobina g/dL	14,35 (13,9-14,8) *	15,15 (14,3-15,45) *	0.034
Hematíes 10 ⁶ /μL	4,7 (0,2) ‡	4,9 (0,3) ‡	0.194
Hematocrito %	42,05 (41,6-42,8) *	43,45 (41,6-44,6) *	0.053
Leucocitos 10 ³ /μL	6,1 (1,4) ‡	6,6 (1,1) ‡	0.303
Basófilos (%)	0,5 (0,5-0,6) *	0,4 (0,43-0,85) *	0.506
Eosinófilos (%)	3,85 (2,4-5,1) *	2,2 (1,15-3,3) *	0.023
Linfocitos (%)	33,97 (29,8-38) *	37,9 (33-40,45) *	0.086

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

	Placebo	Citrulina	p
Monocitos (%)	7,85 (7,1- 9,2) *	8,5 (6,45-9,25) *	0.895
Neutrófilos (%)	53,6 (50,8-55,4) *	51,9 (47,65-56,35) *	0.4156
Neutro/linf	1,56 (1,29-2,02) *	1,34 (1,16 -1,71) *	0.235
Hierro µg/dL	104,6 (34,2) ‡	97,2 (27,2) ‡	0.053
Ferritina ng/mL	67,5 (52-127) *	96 (56,5-183) *	0.348

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

Existen diferencias en valor basal de eosinófilos y hemoglobina.

Tabla 14: Valores de Hematología, hierro y ferritina post intervención.

	Placebo	Citrulina	p
Hemoglobina g/dL	14,6 (14,2-15) *	15,1 (14,35- 15,45) *	0.209
Hematíes 10 ⁶ /µL	4,8 (0,2) ‡	4,9 (0,3) ‡	0.463
Hematocrito %	43,25 (41,8-44,2) *	44,65 (41,55-45,45) *	0.172
Leucocitos 10 ³ /µL	6,65 (5,5-7,2) *	6,8 (5,65-7,9) *	0.441
Basófilos (%)	0,55 (0,4-0,8) *	0,6 (0,35-0,75) *	0.912
Eosinófilos (%)	4,3 (3,4-5,1) *	1,95 (1,25-2,95) *	<0.001
Linfocitos (%)	34,35 (30,9-38,8) *	36,2 (29,45-40,2) *	0.441
Monocitos (%)	8,1 (7,7-9,6) *	8,65 (7,1-9,15) *	0.947

	Placebo	Citrulina	p
Neutrófilos (%)	54,05 (50,1-57,9) *	53,25 (50,1-56,45) *	0.843
Neutro/linf	1,57 (1,27-1,88) *	1,47 (1,26-1,92) *	0.167
Hierro µg/dL	96,5 (81-108) *	93,5 (83-100) *	0.774
Ferritina ng/mL	86,5 (47-120) *	91 (48,5-181,5) *	0.843

‡Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

El porcentaje de eosinófilos se muestra significativamente inferior en el grupo expuesto a citrulina, siendo un marcador de mejor adaptación a la inflamación y estrés celular secundario al ejercicio (168,169). No obstante, estas diferencias ya se encontraban en el análisis basal, por lo que para comprobarlo serían necesario otros estudios apareados por sexo. En el resto de parámetros no observamos variaciones significativas.

Tabla 15: Resultados “Diferenciales” de Hematología, hierro y ferritina.

	Placebo	Citrulina	p
Hemoglobina g/dL	0,25 (0-0,59) *	0,1 (0,2-0,29) *	0.134
Hematíes 10 ⁶ /µL	-0,1 (0,1) ‡	0,0 (0,1) ‡	0.211
Hematocrito %	1,15 (0,9-1,79) *	1,15 (0,15-1,16) *	0.741
Leucocitos 10 ³ /µL	0,2 (0,3-0,5) *	0 (0,4-0,8) *	0.843
Basófilos (%)	0,5 (-1-1) *	0 (0,1-0,15) *	0.655

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

	Placebo	Citrulina	p
Eosinófilos (%)	-0,05 (0,40-1,2)*	0 (-0,45-0,4)*	0.659
Linfocitos (%)	-0,05 (-3,8-4,3)*	-0,1 (-3,85-2,4)*	0.758
Monocitos (%)	0 (-0,3-0,3)*	-0,05 (-0,7-0,65)*	0.775
Neutrófilos (%)	-0,75 (-2,35-3,5)*	-0,25 (-2,35-3,95)*	0.644
Neutro/linf	-0,02 (-0,27-0,41)*	0,02 (0,11-0,37)*	0.613
Hierro µg/dL	12 (-37-24)*	-0,5 (-15,5-23,5)*	0.914
Ferritina ng/mL	9,0 (29,6)‡	-4,7 (19,4)‡	0.137

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

No encontramos variaciones significativas en los parámetros hematológicos, los resultados en el parámetro “eosinófilos” comentados previamente pueden ser consecuencia de las diferencias basales.

IX.3 Resultados referidos a bioquímica general

Tabla 16: Valores basales de bioquímica general.

	Placebo	Citrulina	p
Glucosa mg/dL	92 (85-95) *	87 (81-99) *	0.895
Urea md/dL	41,6 (12,6) ‡	4,19 (7,3) ‡	0.967
Creatinina mg/dL	0,725 (0,7-0,78) *	0,795 (0,72-1) *	0.123
Ac Úrico mg/dL	5,0 (1,1) ‡	4,9 (0,9) ‡	0.668
Colesterol mg/dL	234,6 (834,1) ‡	214,3 (33,1) ‡	0.129
HDL mg/dL	68,2 (8,9) ‡	62,3 (8,1) ‡	0.086
LDL mg/dL	150 (29,7) ‡	135,9 (29,7) ‡	0.232
Triglicéridos mg/dL	81,5 (74-96) *	69 (62,5-100) *	0.226
TYG mg/dL	4,45 (4,37-4,49) *	4,385 (4,3-4,55) *	0.481

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

En los parámetros bioquímicos no se encuentran diferencias en las condiciones basales.

Tabla 17: Valores de bioquímica general relacionados con la salud, post intervención.

	Placebo	Citrulina	p
Glucosa mg/dL	88 (84-96)*	82 (75-90,5)*	0.129
Urea md/dL	41,1 (8,1)¥	40,1 (5,5)¥	0.725
Creatinina mg/dL	0,71 (0,7-0,75)*	0,82 (0,68-0,97)*	0.165
Ac Úrico mg/dL	5 (0,8)¥	4,8 (1)¥	0.606
Colesterol mg/dL	238,9 (35,7)¥	210,7 (30)¥	0.03
HDL mg/dL	61,5 (7,9)¥	58,5 (6,9)¥	0.296
LDL mg/dL	153 (142-172)*	138,5 (109-159)*	0.05
Triglicéridos mg/dL	94,5 (70-101)*	83,5 (60,5-105)*	0.567
TYG mg/dL	4,48 (4,34-4,59)*	4,38 (4,24-4,62)*	0.333

¥Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

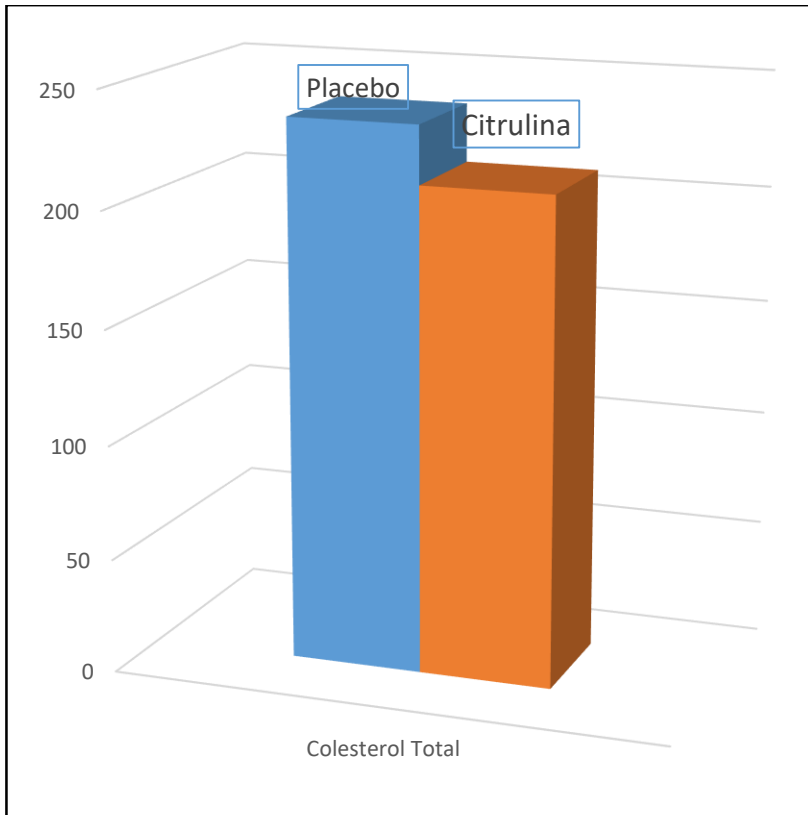


Figura 18: Niveles de colesterol total, placebo vs citrulina tras intervención:

En la figura 18 se muestran unos menores niveles de colesterol total con significación estadística presentando una media de 210 mg/dl en el grupo de tratamiento con citrulina frente a los 238 mg/dl grupo placebo. El resto de parámetros bioquímicos, representados en la tabla 20 cabe mencionar que los valores de LDL se encuentran inferiores en el grupo expuesto a citrulina, quedando en el límite de la significación estadística. No observamos variaciones estadísticamente significativas en los otros parámetros recogidos.

Tabla 18: Resultados “Diferencial” de bioquímica general.

	Placebo	Citrulina	p
Glucosa mg/dL	-1 (-4-1)*	-3 (-10-1)*	0.226
Urea md/dL	-0,5 (11,6)‡	-1,6 (6,8)‡	0.733
Creatinina mg/dL	-0,05 (0-0,1)*	-0,05 (-0,10-0,005)*	0.895
Ac Úrico mg/dL	0 (0,5)‡	-0,1 (0,7)‡	0.933
Colesterol mg/dL	4 (9-15)*	-6,5 (-9,5-0,5)*	0.155
HDL mg/dL	-6,7 (3,7)‡	-3,8 (5,1)‡	0.123
LDL mg/dL	5,5 (-11- 2)*	-3 (3-8)*	0.024
Triglicéridos mg/dL	8 (6-18)*	-1 (-8-24,5)*	0.826
TYG mg/dL	0,0 (0,2)‡	0,0 (0,2)‡	0.058

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. * Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

El diferencial post intervención en el grupo citrulina muestra un descenso de 3 puntos en el LDL alcanzando la significación estadística, frente a un aumento en el grupo con placebo. El resto de parámetros no arrojan significación estadística, pero se observan valores de una mayor disminución de glucosa, colesterol total y triglicéridos.

IX.4 Resultados de parámetros relacionados con enzimas musculares.

Tabla 19: Valores basales, parámetros relacionados con enzimas musculares.

	Placebo	Citrulina	p
Proteínas totales g/dL	7,3 (7,1-7,5)*	7,1 (6,85-7,25)*	0.054
GOT UI/L	25 (22-27)*	24 (21,5-27)*	0.627
GPT UI/L	17,5 (14-20)*	21 (17-25,5)*	0.299
CK UI/L	134,5 (83-162)*	110 (96-128,5)*	0.526

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas. CK: Creatin kinasa; GOT: aspartato aminotransferasa; GPT: alaninaaminotrasferasa.

No existen diferencias en los marcadores musculares de referencia a nivel basal.

Tabla 20: Valores de parámetros relacionados con las enzimas musculares indicadoras del daño muscular post intervención.

	Placebo	Citrulina	p
Proteínas totales g/dL	7,4 (0,3)‡	7,1 (0,4)‡	0.069
GOT UI/L	24,5 (20-27)*	23 (20-27)*	0.843
GPT UI/L	17,5 (14-23)*	20 (17-26)*	0.237
CK UI/L	89 (84-120)*	116 (94-142,5)*	0.187

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

¥ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas. CK: Creatin kinasa; GOT: aspartato aminotransferasa; GPT: alaninaaminotrasferasa.

No observamos variaciones significativas en los parámetros analizados tras la intervención.

Tabla 21: Resultados “Diferencial” de parámetros de Enzimas musculares.

	Placebo	Citrulina	p
Proteínas totales g/dL	0,99 (0,1)¥	0,19 (0,3)¥	0.846
GOT UI/L	-2 (-4-0)*	-1 (-3-0,5)*	0.626
GPT UI/L	0 (3-4)*	0 (2-2,5)*	0.877
CK UI/L	-19 (-72-9)*	0,5 (-15-16,5)*	0.262

¥ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas. CK: Creatin kinasa; GOT: aspartato aminotransferasa; GPT: alaninaaminotrasferasa.

No encontramos diferencias en las enzimas musculares, la poca intensidad aplicada al programa de ejercicio hace previsible estos resultados.

IX.5 Resultados parámetros hormonales.

Tabla 22: *Parámetros basales hormonales.*

	Placebo	Citrulina	P
Cortisol µg/dL	16,7 (4,5)‡	16 (4,2)‡	0.681
Testosterona ng/mL	0,5 (0,35-0,58) *	0,67 (0,48-4,09) *	0.058
Test/cortisol	2,83 (2,36-3,32) *	5,795 (2,64-26,02) *	0.113
Vitamina D ng/mL	21,85 (17,2-28,7) *	2,9 (17-30,55) *	0.725

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. * Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

Desde el punto de vista hormonal no hay diferencias basales.

Tabla 23: *Valores de Parámetros hormonales post intervención.*

	Placebo	Citrulina	P
Cortisol µg/dL	17 (4,4)‡	16,1 (2,6)‡	0.511
Testosterona ng/mL	0,38 (0,28-0,51) *	0,64 (0,34-3,67) *	0.118
Test/cortisol	2,39 (1,48-2,81) *	4,41 (2,2-25,86) *	0.071
Vitamina D ng/mL	23,7 (18,1-29,7) *	25,6 (19,95-31,65) *	0.415

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

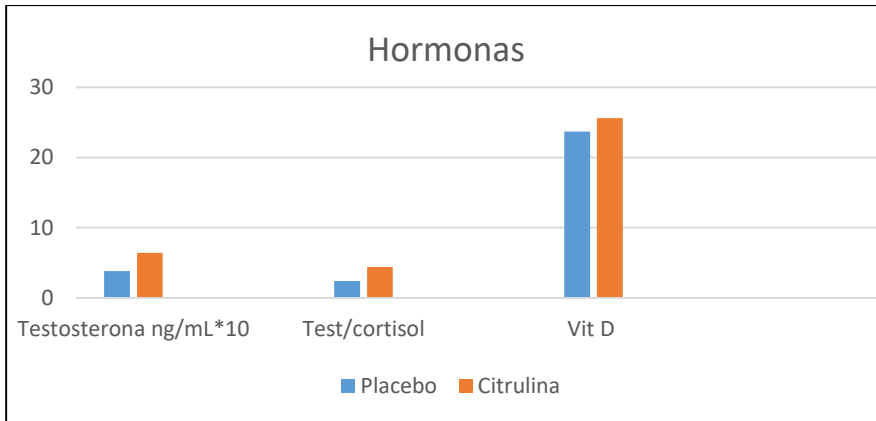


Figura 19: Parámetros hormonales.

No observamos diferencias significativas en los niveles testosterona, cortisol, su razón (como parámetros de estrés físico), ni para los niveles de vitamina D. Pese a la tendencia a favor del anabolismo de la figura 19 no se puede sacar conclusiones sobre estos resultados debido a la distribución desigual final de la muestra en cuanto al sexo.

Tabla 24: Resultados “Diferencial” de parámetros hormonales.

	Placebo	Citrulina	P
Cortisol µg/dL	0,3 (5,5)‡	0,1 (4,1)‡	0.929
Testosterona ng/mL	-0,13 (-0,19-0,06)*	-0,09 (-0,220-0,005)*	1
Test/cortisol	-0,8 (-1,36-0,37)*	-0,94 (-2,73-0,31)*	0.809
Vitamina D ng/mL	1,1 (-1,1-1,7)*	1,4 (-0,29-2,5)*	0.153

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas.

Las hormonas de estrés y anabólicas no muestran resultados estadísticamente significativos, observándose cifras muy similares al igual que el análisis de la vitamina D.

IX.6 Resultados de pruebas de aptitud física.

Se presentan los resultados referidos a las pruebas de aptitud física, para la medición de la resistencia, la fuerza y la velocidad. Así mismo se muestran los datos de cantidad de ejercicio realizado y su intensidad, según las encuestas llevadas a cabo.

Tabla 25: Valores basales en Pruebas físicas.

	Placebo	Citrulina	P
Resistencia 6 min. (m)	823 (194,1)‡	922,5 (186,9)‡	0.185
Fuerza Dinamómetro(N)	26 (24-32) *	29,5 (24,75-45) *	0.270
Velocidad Marcha (s)	2,24 (2,12-2,35) *	2,15 (1,98-2,24) *	0.235
Sentadilla (s)	12,1 (1,8)‡	10,1 (1,8)‡	<0.01
SPPB	11 (11-12) *	12 (11-12) *	0.082
Mets hora /semana	51,2(57,1)‡	88,4 (52,5)‡	0.086
Intensidad ejercicio (mets)	4,23 (1,52-6,35) *	7,39 (5,12-12,02) *	0.031
Ejercicio semana (h)	9,26 (2,56-10,42) *	14,13 (10,55-23,14) *	0.022

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas. SPPB: Short Physical Performance Battery.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

Al analizar las características basales de las pruebas físicas realizadas, encontramos diferencias en los registros de tiempo empleado en sentadillas, las horas semanales de ejercicio y su intensidad, estas diferencias pueden deberse a la heterogeneidad de sexo, por lo que sería preciso un estudio posterior con una distribución más homogénea.

Tabla 26: Valores de Pruebas físicas post intervención.

	Placebo	Citrulina	P
Resistencia 6 min. (m)	842,9 (208,9)‡	969,8 (237)‡	0.162
Fuerza Dinamómetro	27,5 (25-29)*	31 (25,5-46,5)*	0.301
Velocidad Marcha (s)	2,35 (2,15-2,58)*	2,08 (1,96-2,34)*	0.038
Sentadilla (s)	11,08 (4,48-12,79)*	10,03 (8,82-11,25)*	0.099
SPPB	11 (11-12)*	12 (11,5-12)*	0.159
Mets hora /semana	64,9 (112,3)‡	61 (49,9)‡	0.895
Intensidad ejercicio (Mets)	6,34 (4,45-9,92)*	4,94 (4,69-5,79)*	0.054
Ejercicio semana (h)	3,85 (2,5-12,91)*	14,38 (3,48-19,73)*	0.194

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. * Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas. SPPB: Short Physical Performance Battery.

La velocidad de marcha en el grupo de intervención con citrulina presentó un menor registro en el tiempo empleado en recorrer los 4 m pasando

de 2.35 a 2.08 segundos en el grupo de intervención. En el grupo placebo, se registra un tiempo medio mayor para la realización de esta prueba, lo que elimina al programa de ejercicio físico como factor modificador de la intervención. Los registros se realizaron de forma homogénea por personal entrenado y que desconocía la asignación de la intervención. La velocidad de la marcha, es uno de los factores más importantes de valoración de la discapacidad y de la sarcopenia.

El resto de parámetros recogidos (fuerza, resistencia, sentadillas), mostraron unos resultados que se corresponden con una mejora general del rendimiento físico, aunque no resulten estadísticamente significativos. La capacidad de resistencia fue de más de 100 metros de diferencia el grupo de intervención con citrulina. Recorriendo los individuos tratados con citrulina, una media de 969 m frente a los 842 m recorridos en el grupo control.

En el test de presión de la mano no encontramos significación estadística en los resultados, mostrando unos datos de 27,5 Kg en el grupo placebo frente a 31 Kg en el de expuestos al aminoácido (CIT).

Tabla 27: Resultados “Diferencial” de pruebas físicas.

	Placebo	Citrulina	P
Resistencia 6 min. (m)	19,9 (57,7)‡	47,2 (160,7)‡	0.608
Fuerza dinamómetro (N)	1 (1-2)*	1,25 (1,5-3)*	0.707
Velocidad Marcha (s)	0,16 (-0,14-0,33)*	-0,02 (-0,18-0,26)*	0.218
Sentadilla (s)	-1,45 (-2,11-0)*	-0,42 (-1,14-0,67)*	0.159
SPPB	0 (0-1)‡	0 (0-0,5)‡	0.687

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

	Placebo	Citrulina	P
Mets hora /semana	13,7 (64,2)‡	-27,4 (54,3)‡	0.077
Intensidad ejercicio (metts)	1,17 (-0,14-1,9)*	-0,08 (-0,42-0,53)*	0.039
Ejercicio semana (h)	1,3 (-6,4-3,79)*	2,41 (8,73-,12)*	0.312

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. *Expresa los datos como mediana y rango intercuartílico al tratarse de variables no paramétricas. BMI: índice de masa corporal, PS: presión sistólica, PD: presión diastólica, FC: frecuencia cardíaca, ADH: índice adhesión a dieta mediterránea.

Al evaluar la intensidad de ejercicio se ve disminuida de forma significativa en el grupo citrulina datos que concuerdan con los anteriormente expuestos ya que se ha reducido la intensidad referida al adquirir una mejor tolerancia al ejercicio físico debido al entrenamiento reglado. El resto de parámetros no resultan significativos. Cabe mencionar que los mets/hora/semana que de forma basal encontrábamos diferencias significativas, tras la intervención, no existe. El hecho de ser un cuestionario autoreferido, que las recomendaciones generales aportadas aconsejaban tiempos e intensidades menores a las que muchos de los sujetos realizaban basalmente, hayan hecho que redujeran este parámetro, además el sentirse dentro de un programa estructurado y observados puede que hiciera que restringieran su ejercicio en el tiempo libre.

IX.7 Resultados de valoración de la salud.

Se presentan los resultados de “indicadores de salud” referidos a parámetros de valoración de la salud, como índice de masa corporal, tensión arterial, frecuencia cardíaca y porcentaje graso.

Tabla 28: *Parámetros basales de Indicadores de salud.*

	Placebo	Citrulina	p
BMI (kg/m ²)	25,3 (2,4)‡	25,7 (3,2)‡	0.777
Sistólica (mmHg)	132,4 (11,3)‡	133,9 (23,7)‡	0.852
Diastólica (mmHg)	81,5 (12,1)‡	78,4 (10,5)‡	0.475
Frec, cardíaca/ ppm	69,7 (15,7)‡	69 (12,5)‡	0.963
Grasa%	31,6 (7,5)‡	29 (6,8)‡	0.345
ADH	9,8 (2,3)‡	8,7 (2,4)‡	0.311

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. BMI: índice de masa corporal, PS: presión sistólica, PD: presión diastólica, FC: frecuencia cardíaca, ADH: índice adhesión a dieta mediterránea

No encontramos diferencias en las características biométricas.

Tabla 29: *valores de “Indicadores de salud” post intervención.*

	Placebo	Citrulina	p
BMI (kg/m ²)	25,4 (2,3)‡	25,4 (3)‡	0.956
Sistólica (mmHg)	136,2 (7,9)‡	128,9 (19,8)‡	0.277

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

	Placebo	Citrulina	p
Diastólica (mmHg)	83,6 (10,1)‡	76,2 (10,3)‡	0.072
Frec, cardíaca (ppm)	70,7 (14)‡	67 (13,6)‡	0.506
Grasa%	30,3 (6,8)‡	27,9 (5,7)‡	0.318
ADH	10,6 (2,2)‡	8,4 (1,4)‡	0.016

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. BMI: índice de masa corporal, PS: presión sistólica, PD: presión diastólica, FC: frecuencia cardíaca, ADH: índice adhesión a dieta mediterránea.

En el grupo de placebo encontramos una mayor adhesión a dieta mediterránea según el cuestionario PREDIMED, su interpretación será desarrollada en el apartado de “discusión”. En el resto de parámetros. No observamos diferencias significativas en ninguno de los grupos. Sin embargo, los registros de presión arterial sistólica y diastólica difieren en casi 9 mm de Hg de media con menores cifras a favor del suplemento de citrulina.

Tabla 30: Resultados “Diferencial” de indicadores de salud.

	Placebo	Citrulina	p
BMI (kg/m ²)	0,0 (0,3)‡	-0,2 (0,4)‡	0.058
Sistólica (mmHg)	3,8 (15,4)‡	-5,0 (16,3)‡	0.169
Diastólica (mmHg)	2,1 (9,9)‡	-2,2 (10,1)‡	0.278
Frec, cardíaca/ ppm	1,0 (3,5)‡	-2,0 (5,6)‡	0.132
Grasa%	-1,4 (2,4)‡	-1,1 (4,0)‡	0.860

ADH	1,0 (0,8)‡	0,1 (1,7)‡	0.309
-----	------------	------------	-------

‡ Expresa los datos como media y desviación estándar al tratarse de variables paramétricas. BMI: índice de masa corporal, PS: presión sistólica, PD: presión diastólica, FC: frecuencia cardíaca, ADH: índice adhesión a dieta mediterránea.

Se observa una variación del índice de masa corporal (BMI) de -0,2 puntos tras la intervención en los expuestos a citrulina. El resto de parámetros no alcanzan la significación estadística

DISCUSIÓN

X.DISCUSIÓN

En este estudio sobre el efecto de la citrulina en la modulación de la sarcopenia, los datos más relevantes que hemos observado, son los referidos a la condición física, encontrando modificaciones prometedoras. Sin embargo, en lo referente a las variables biológicas, no hemos podido observar (en general) modificaciones significativas.

El hecho de haber planteado este estudio como un proyecto piloto, aplicándolo a una población diana muy poco estudiada y con un diseño basado en dosis bajas y ejercicio de intensidad moderada, diferente a los habituales, abre la puerta a plantearse futuros estudios con una mayor potencia estadística al haberse conseguido una correcta adherencia al esquema experimental planteado, haber conseguido un seguimiento del 100%.

Al estudiar la bibliografía correspondiente, hemos visto, estudios publicados que demuestran un beneficio importante en el uso de aminoácidos como la citrulina, referido a la disminución del daño y dolor muscular, mejoras del rendimiento aeróbico y anaeróbico, activación hormonal, bioquímicos, etc (77,150,151). Sin embargo, en otras publicaciones este beneficio no era estadísticamente significativo (154). En base a ello, parece claro que, para una correcta interpretación, deberíamos tener en cuenta las diferencias tanto en el planteamiento, como en el diseño de los distintos estudios, y los condicionantes previos.

Sin duda, existen diferencias en la población a la que se dirigen los diferentes estudios, dosis utilizadas, etc.

El objetivo de este trabajo de tesis Doctoral, fue evaluar los efectos ergogénicos de una dosis de 2 g/día de malato de citrulina (CM), durante 6 semanas. Esta suplementación, se asoció a un programa de ejercicio físico de mantenimiento para personas mayores, en el que se combinó la resistencia, la fuerza y el equilibrio de forma sistemática, adaptando el esfuerzo a los niveles de capacitación de los participantes.

En ningún caso, el nivel de intensidad superó el 60 % del esfuerzo máximo teórico, en base a la verificación de la toma de pulsaciones a lo largo de las sesiones de trabajo físico. Nuestra hipótesis a priori fue que la suplementación “crónica” con CM mejoraría la recuperación frente al ejercicio, aumentando la capacidad de trabajo, reflejado en una mejora del rendimiento muscular, con un posible aumento secundario de su masa.

En general, y tras consultar con los sujetos participantes, había una apreciación subjetiva de mejoría en gran parte de los participantes, esto no fue recogido en ningún cuestionario de evaluación, pero sí que se consiguió una asistencia del 100% de los participantes (no conseguida en todos los cursos de actividad deportiva habituales en esas instalaciones) y un abandono del 0%. En términos generales sus opiniones no registradas sistemáticamente, sugerían una mejor adaptación al ejercicio, y una ausencia de cansancio, durante y tras la realización de nuestros programas.

En este sentido, los diseños que muestran beneficios a nivel muscular y sobre todo de reducción del dolor durante el esfuerzo y post esfuerzo, se han realizado en deportistas con niveles de entrenamiento altos y, además, con dosis elevadas de citrulina (CIT), llegando a utilizar 8 g diarios. Sin embargo, en nuestro estudio han participado sujetos de edad superior a los 65 años y hemos utilizado 2 g/día en la suplementación.

A pesar de ello, en el presente estudio, la ingesta de 2 g de malato de citrulina (CM), produjo aumento en el rendimiento físico en la prueba de velocidad de la marcha en comparación con el grupo control, disminuyendo de forma significativa el tiempo empleado en recorrer los 4 metros establecidos. Por otro lado, los resultados de la prueba de resistencia no son irrelevantes, ya que a pesar de no alcanzar diferencias significativas, el hecho de recorrer 969.8 frente a 842.9 m a favor del grupo con toma de citrulina es apreciable. Un total de 126.9 metros más que el grupo placebo.

De gran importancia es la mejora en la fuerza, (parámetro esencial en estudios de sarcopenia), observando que en el grupo tratado con citrulina, fue de 31 kg frente a los 27.5 kg del grupo placebo.

Estos resultados, reflejan una tendencia de mejora de parámetros físicos a favor de la citrulina, que seguramente sea demostrable con un aumento de la potencia de estudio.

En la literatura encontramos estudios, realizados sobre participantes masculinos, que mostraban una mejora de la fuerza, utilizando dosis de 8 g citrulina (150,170). Sin embargo, estos datos no se reprodujeron en un estudio, con diseño similar, llevado a cabo en mujeres, Cutrufello et al, (171) en las que la mejora no fue significativa. Esta disparidad, nos hace plantear la hipótesis de que la disminución de la dosis de 6 g/día (2 g frente a 8 g/día), sea la razón por la cual, no encontraron beneficios en el rendimiento.

En un estudio llevado a cabo solamente con mujeres Jordan et al. (163) suplementaron con 8 g/día de (CM) a 15 voluntarias entrenadas, realizándoles un test de press de banca submáxima hasta el agotamiento. En este caso, se reportaron resultados similares a los obtenidos en grupos de hombres. Este

hecho, indica que dosis cercanas a 0.12 g/kg (unos 8 g/día) son adecuadas para la mejora de la fuerza-resistencia en personas entrenadas. Además, parece ser que las mujeres experimentaron una respuesta más significativa con la toma de (CM), en lo referente a trabajos y ejercicios de fuerza del tren inferior (piernas), con sentadillas (press de piernas), que con del tren superior (press de banca). Este fenómeno, puede deberse a la distinta distribución muscular en las mujeres, pues en el tren inferior tienen una proporción de músculo esquelético superior a la de los hombres (172,173).

Por otro lado, estudios recientes muestran resultados significativos con dosis de citrulina muy pequeñas (1.2 g/día), manteniendo la suplementación durante 7 días (169). Si bien en este estudio se combinó con 1.2 g/día de arginina. Suzuki et al. (174) proponen que la mejora de la concentración de óxido nítrico (NO) en sangre puede lograrse con la combinación de ambos aminoácidos y con ello una mejora del rendimiento. En este estudio también se utilizan, como base del estudio para la valoración de la mejora en el rendimiento, esfuerzos hasta la extenuación.

En nuestro estudio debemos tener en cuenta que la mayoría de los participantes han sido mujeres y aunque muchas ayudas ergogénicas han demostrado ser beneficiosas para los hombres, no se puede suponer que los hombres y las mujeres experimenten respuestas exactamente iguales al uso de los suplementos ergogénicos, debido a las diferencias fisiológicas entre los sexos (175), y que acabamos de mencionar referente a las observaciones realizadas por otros autores.

Como hemos dicho la dosis que hemos utilizado, 2g/día, es decir, unos 0.02 g/kg durante 6 semanas. En principio esto nos debería llevar a pensar que, al utilizar dosis menores, los efectos también serían menores. Por otro

lado, también podríamos pensar que posiblemente la dosis utilizada (2 g/día) no haya logrado el efecto acumulativo suficiente a lo largo de las seis semanas, limitando una mejora sustancial. Estas dos circunstancias pueden haberse sumado para obtener resultados menos significativos de lo comunicado en la literatura.

Sí está comunicado que los efectos de CM se han observado en individuos jóvenes, y la producción de NO se observa disminuida con la edad avanzada (176). Una de las razones de esta disminución se ha atribuido al aumento de la actividad arginasa (177). La L-citrulina inhibe la actividad de la enzima arginasa por lo que la suplementación puede favorecer la disponibilidad de L-arginina. Por lo tanto, la suplementación con CM aumenta la concentración de arginina y esto supone un aumento potencial de la producción de NO a partir de NOS. Basándonos en estos argumentos, se puede suponer que el efecto en personas mayores de la suplementación con CM no provoque efectos tan intensos como en los individuos jóvenes, en cuanto al rendimiento del ejercicio.

El enfoque que queríamos aplicar a nuestro diseño experimental era el de la promoción de una vida saludable. Nuestra intervención pretende facilitar la realización de ejercicio y la tolerancia al mismo. Es por esto por lo que no hemos sometido a los participantes a test de esfuerzo máximo. El planteamiento pretende ser de carácter más “longitudinal” manteniendo una dosis de CM durante un tiempo prolongado, para registrar además de la mejora del rendimiento y adaptabilidad al ejercicio, que sin duda se verán reflejados, en beneficios sobre la calidad de vida a través del ejercicio físico.

Para nosotros fue destacable que los participantes del estudio, refirieron mejoras en su desarrollo de actividades diarias, recabadas en los

comentarios derivados de las charlas informales después de las distintas sesiones, escuchando frases como “¡me siento mejor!, *no me cuesta levantar a mi nieto*”, “*subo mejor las escaleras*” etc.

Sin embargo, al no haber realizado pruebas de rendimiento máximo, ni siquiera submáximos, resulta más complicado valorar las mejoras. Por ejemplo, en las pruebas de equilibrio, validadas para mayores de 60 años (nuestra muestra), el 100 % de los participantes consigue la máxima puntuación antes del tratamiento, por supuesto, al final del estudio, consiguen también la máxima puntuación, por lo que no hay una valoración positiva pre y post estudio.

X.1. Ejercicio Físico

La valoración de la condición física se ha realizado mediante distintas pruebas de valoración física en las que medimos la resistencia, la fuerza, la velocidad de marcha y el equilibrio.

Como acabamos de comentar, los cambios en los parámetros físicos (fuerza, resistencia y velocidad de marcha) y el BMI son los que mayor cambio han generado tras la suplementación con citrulina. Creemos que estos datos tienen gran importancia en grupos poblacionales como los estudiados, dado que la sarcopenia, se caracteriza por un deterioro muscular fisiológico progresivo.

El ejercicio físico es el estímulo que desencadena gran parte de las reacciones de regeneración muscular. El envejecimiento afecta negativamente al funcionamiento de estos mecanismos, por lo que insistir en mantener un nivel adecuado de ejercicio como principal estímulo resulta

esencial. (Figura 3). De hecho, nuestro programa de entrenamiento parece ser un reflejo de ello.

X.2. Resistencia

En nuestro estudio, como test de resistencia, utilizamos la prueba de “máxima distancia recorrida en 6 minutos”.

Muchos autores asocian el desarrollo de la capacidad de resistencia tanto en hombres (150, 170) como en mujeres (178), con el suplemento de citrulina durante episodios repetidos de ejercicio de resistencia submáximo y también hasta el agotamiento.

En nuestro estudio la distancia recorrida en metros en el grupo de CM fue de 969,8 m al final del periodo de tratamiento, frente a los 842,9 m recorridos por el grupo placebo. Aunque no hubo significación estadística, creemos que una diferencia superior a 100 m supone un beneficio importante desde el punto de vista de la mejora del rendimiento físico y de la condición física saludable. De hecho, supone aumentar la distancia a recorrer en un 13,09 %, siendo conscientes de la limitada potencia de nuestro estudio, si esta tendencia se confirmara en futuras investigaciones con una muestra mayor y una distribución más homogénea, podría suponer una mejora de gran relevancia tanto para la población general como para deportistas profesionales.

X.3. Fuerza

Para la medición y valoración de la fuerza utilizamos la prueba de fuerza de agarre (prensión) con la mano dominante, medida con un dinamómetro específico para esta prueba. La fuerza de prensión con la mano

es una prueba que se relaciona muy bien con la fuerza y el estado de fatiga general del individuo (179).

La pérdida de fuerza muscular es uno de los parámetros más aceptados dentro de los síntomas que determinan la sarcopenia. Lo esperado en el proceso relativo a la fuerza en este grupo de edad, es que progresivamente disminuya, por lo que podemos considerar algo importante y deseable que el nivel de fuerza se mantenga. En nuestro estudio hemos visto como la fuerza de prensión era ligeramente mayor en el grupo de CM que en el grupo placebo. Si bien no resulta estadísticamente significativo, al igual que en el parámetro de resistencia consideramos que su relevancia si se llegara a confirmar en estudios posteriores sería de gran importancia especialmente en la prevención y tratamiento de la sarcopenia.

A este respecto son muchos los artículos que indican que la realización de trabajos de fuerza es muy importante en la modulación de la sarcopenia. En este sentido Pérez-Guisado J et al, (150), examinó el efecto de 8 g de citrulina en una toma única para analizar el rendimiento en una prueba específica de fuerza con el press de banca (ejercicio de pectoral), mostró un aumento significativo en el número de repeticiones realizadas (el cuarto intento un 52 % más que en la sesión de placebo). Así mismo según Bendahan D et al, (151) la CM también puede ser beneficiosa para el músculo, ya que potencialmente mejora la producción de fuerza. La suplementación con CM ha sido una opción de tratamiento popular para este tipo de estudios, ya que se ha informado que el CM promueve la producción de energía aeróbica. Ham DJ et al. (180) refieren que el CM tiene efectos sobre la síntesis de proteínas musculares de una manera dependiente de la iNOS e independiente de mTORC1 y sugiere que la citrulina actúa en las proteínas

musculares al aumentar la entrega de moduladores directos de la síntesis (147).

X.4. Velocidad de marcha

El registro de la velocidad de marcha se realizó mediante una prueba que consistía en caminar en una distancia de 4 metros cronometrando la duración mediante células fotoeléctricas. "The European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) propuso la utilización de un algoritmo asociando la pérdida de la velocidad de marcha (estableciendo el umbral en ≤ 0.8 m/s) y la baja fuerza de agarre utilizando el cuartil más bajo de la distribución de la muestra (19, 26).

Nosotros hemos visto resultados prometedores considerando que este parámetro es clave en los estudios de valoración de la sarcopenia y de la autonomía de los mayores. El grupo tratado con placebo con respecto al grupo expuesto a citrulina pasó de un tiempo de 2.35 s a 2,08 s en recorrer 4 m (1,70 frente a 1,92 m/s). Esto supone que el grupo tratado con CM desarrolló un 11.46 % más de velocidad que el grupo placebo. Según las recomendaciones de la (EWGSOP), el umbral de la sarcopenia equivaldría a un tiempo de 5 segundos en la prueba de velocidad en 4 metros (0,8 m/s). Tanto el grupo placebo (2,35 seg), como el de intervención (2,08 seg) realizan el recorrido en menos de la mitad del tiempo de referencia. El registro de este parámetro fue realizado por un único investigador que no conocía la asignación de los participantes y se realizó en dos únicas sesiones sin existir diferenciación de los participantes según su asignación.

X.5. Hematología

En este estudio hemos observado cambios en los parámetros hematológicos (aunque no estadísticamente significativos), los niveles tanto de hemoglobina como de hematocrito aumentaron en el grupo de tratado con citrulina. Aunque no hemos observado significación estadística, si puede ser un factor a tener en cuenta a nivel clínico.

Los valores de leucocitos y su distribución son similares en ambos grupos. Hay evidencias de que el ejercicio físico tiene influencia sobre la inflamación, produciéndose una disminución de los neutrófilos y de los eosinófilos (168, 169). En nuestros resultados podemos ver como los niveles de eosinófilos disminuyen de forma significativa en el grupo expuesto a citrulina, no obstante, las características basales de la muestra, nos impiden dar por válida esta mejora, que demostraría un menor nivel inflamatorio y de estrés celular atribuible a esta sustancia.

Esta respuesta supone una mejora para la salud, que puede redundar en la calidad de vida de las personas tratadas con CM. El hecho de producirse una disminución en los neutrófilos puede estar relacionado con los efectos de la citrulina sobre el músculo, ya que actúa favoreciendo la contracción muscular y reduciendo los niveles de fatiga muscular. Además, algunos autores (150, 181) reflejan que tras la administración de CM se reduce el número total de leucocitos y especialmente de neutrófilos, pudiendo este hecho inducir vasoprotección mediada por el NO, con la inhibición de la adhesión celular y activación de los leucocitos, reduciendo el daño endotelial (153,181).

Por otro lado, en varios estudios se ha observado también que la ingestión de CM reduce las concentraciones séricas de citoquinas

inflamatorias como la IL-6, el TNF- α y la proteína C reactiva, aunque los mecanismos por los que media la CM en las mejoras sobre la inflamación sistémica no son conocidos (182,183). Breuillard et al. (2015) (184) publicaron que la L-citrulina puede producir beneficios para la salud al disminuir la producción de citoquinas de macrófagos. Estos datos nosotros no los podemos discutir dado que no los hemos determinado, por lo que su discusión supondría una mera especulación. Pero ello no quita para que lo tengamos en cuenta a la hora de entender la respuesta de los leucocitos, dado que son la barrera defensiva de nuestro organismo.

X.6. Bioquímica: perfil lipídico

En los resultados obtenidos de las variables bioquímicas, encontramos una importante mejoría especialmente en el metabolismo lipídico. Se reportan diferencias estadísticamente significativas para el colesterol total disminuyendo la media de los grupos de 238,9 mg/dL a 210,7 mg/dL ($p < 0.03$). Encontramos también unos niveles sensiblemente menores en la LDL, presentando el grupo placebo 153 mg/d frente a los 138.5 mg/d del grupo suplementado con citrulina. El resto de parámetros lipídicos registrados: triglicéridos e índice TYG muestran mejores resultados en el grupo de CM sin ser variaciones significativas. En este contexto, viendo la mejora en colesterol total y en LDL, si lo relacionamos con el porcentaje grasa y con el peso corporal, podemos ver que el peso total se mantiene, se produce una disminución del peso grasa, lo cual indica que debe de haber un aumento del peso magro (185, 186).

Desde un punto de vista metabólico, algunos autores (61, 187, 188) indican que la CM aumenta la biogénesis mitocondrial y síntesis de proteínas

musculares (MPS). Además, los datos preclínicos sugieren que la CM promueve la lipólisis del tejido adiposo (152).

Es importante tener en cuenta que la acumulación de lípidos intramiocelulares (IMCL) y la disfunción mitocondrial, están relacionados con la resistencia a la insulina asociada a la obesidad. El entrenamiento de resistencia actúa sobre la función mitocondrial, aumentando la capacidad oxidativa mitocondrial. Por ello la combinación de actividades físicas que desarrollen tanto la fuerza como la resistencia contribuyen en la mejora de la calidad de vida de las personas mayores (189).

X.7. Enzimas musculares

El ejercicio muscular intenso, si además es prolongado en el tiempo lleva a la fatiga, lo que aparece como una reducción de la capacidad del músculo para la contracción, disminuyendo la generación de fuerza (190)

En general, en mayor o menor medida, con el ejercicio se va a producir un daño muscular, lo que provoca una serie de cambios a nivel enzimático que se van a hacer visibles en la modificación de las tasas séricas de las enzimas musculares (191). El daño muscular se va a producir, a partir de la aparición de procesos inflamatorios derivados del propio ejercicio y todo ello se acompaña de dolor muscular. Las células implicadas en la inflamación como los neutrófilos y los monocitos y macrófagos secretan mediadores proinflamatorios denominados citoquinas (192).

El ejercicio intenso que puede provocar el daño muscular o fatiga, se convierte en un estrés para las células musculares y puede conducir a una inflamación aguda (35, 192, 193).

En poblaciones de edad avanzada como la que nosotros hemos tratado en este trabajo, se puede encontrar de forma añadida una inflamación crónica basal provocada por la infiltración de neutrófilos y monocitos en el tejido graso, por enfermedades asociadas a la edad que suponen una liberación de mediadores inflamatorios como la arterioesclerosis.

La inflamación crónica también está involucrada en la sarcopenia y puede desencadenar enfermedades como la demencia, osteoporosis (35, 193). En estos casos se ha comunicado que el ejercicio puede actuar como modulador antiinflamatorio, siempre que este correctamente planificado y monitorizado. Además, la citrulina con su acción vasodilatadora a través del NO también favorece la mejor irrigación de las fibras musculares, con la consiguiente llegada de nutrientes y la disminución de los procesos inflamatorios al conseguir una mejora del homeostasis celular (35, 164, 194).

En nuestro trabajo, los parámetros musculares no presentaron variaciones significativas. Sin embargo, podemos hacer notar que, a pesar del entrenamiento, la CK no sufrió una modificación reseñable, por lo que desde el punto de vista clínico puede ser una mejora apreciable, al no producirse una gran destrucción de fibra muscular.

Dado que el programa de ejercicio empleado no ha sido agresivo y que los participantes partían de una condición física inicial buena, estos indicadores muestran niveles similares entre los grupos placebo y citrulina. Ello pone de manifiesto que el programa de ejercicio propuesto no era muy exigente, y que su estado de forma previo a la intervención era bastante bueno.

En este sentido, numerosos estudios (150, 156), indican que uno de los efectos fundamentales de la CM es la disminución del dolor muscular y el aumento de la tolerancia al ejercicio. Es posible que por estas razones en el grupo tratado con citrulina, los participantes lleven a cabo un ejercicio con más implicación, con más intensidad y como consecuencia mantengan los niveles de CK. Podemos considerar que estos valores no son una consecuencia negativa de la utilización de la citrulina, si no que esa mejor adaptación al ejercicio promueve una realización del mismo de forma más intensa.

X.8. Hormonas

En nuestro estudio hemos determinado y valorado el comportamiento de la testosterona y del cortisol. La testosterona como hormona indicadora de la respuesta anabólica, y el cortisol como indicador de la respuesta catabólica. En nuestro estudio observamos que la testosterona es ligeramente superior en el grupo tratado con citrulina, con respecto al placebo siendo estos resultados no significativos y precisando un apareamiento por sexo para comprobarse. Por su parte, el cortisol se mantuvo en valores ligeramente inferiores al estado basal y al grupo control, pero en ningún caso estadísticamente significativo. Creemos que, con una mayor población de estudio, podríamos estudiar si la citrulina promueve un cierto predominio de las hormonas anabólicas sobre las catabólicas.

X.8.1. Testosterona/cortisol

En la sarcopenia se produce una pérdida de masa muscular y de la fuerza como episodios fundamentales y para el mantenimiento de ambas, juega un papel importante la testosterona (77). Esta hormona, sufre una disminución progresiva con la edad, suponiendo un agravante en el desarrollo

de esta enfermedad. Los niveles de testosterona en hombres disminuyen en un 1% cada año a partir de los 30 años (195), mientras que, en las mujeres, esta disminución se produce de forma más brusca de los 20 a 45 años (196). La influencia de la testosterona sobre la producción de masa muscular y la activación de las células satélite son los mecanismos objetivo de protección frente a la sarcopenia.

En nuestro estudio, aunque los niveles de testosterona fueron bajos, la respuesta tras el tratamiento con citrulina, podría señalar, que este aminoácido pudiera tener un papel relevante en la mejora funcional muscular a través del aumento de los valores de testosterona.

Pensamos que estos datos observados en nuestro trabajo son importantes y creemos que tienen gran relevancia clínica, si consiguiéramos reproducirlos en un estudio posterior, por cuanto podría suponer un retraso en el proceso de envejecimiento muscular, es decir, un efecto modulador de la sarcopenia. Creemos que con un reclutamiento mayor de voluntarios y con un periodo más prolongado de seguimiento, estas diferencias podrían hacerse más importantes.

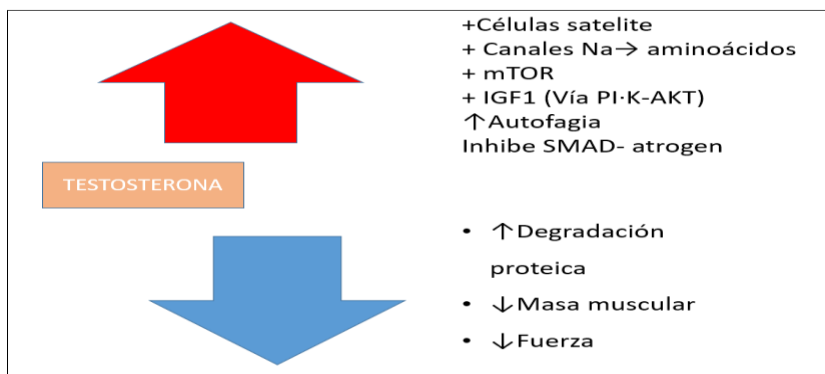


Figura 20: El aumento de niveles de testosterona, favorece la ergogénesis por distintas vías.

Desde el punto de vista práctico consideramos que la forma de mejorar los niveles séricos de testosterona y por lo tanto de prevenir los efectos de la sarcopenia es la realización de programas de ejercicio físico en los que se combine con la suplementación adecuada de aminoácidos con carácter ergogénico hipertrofico muscular y a su vez favorecedores de la oxigenación muscular. (Figura 20).

Con respecto a la respuesta del cortisol, en nuestro trabajo los valores se mantuvieron. Sin embargo, hay numerosos estudios que muestra que con el envejecimiento los niveles de cortisol tienden a elevarse (196).

X.9. Análisis de indicadores de salud

Respecto a los parámetros analizados, referentes a los indicadores de salud, índice de masa corporal (IMC), presión sistólica, diastólica, frecuencia cardiaca (FC) y % grasa, no observamos diferencias significativas en ninguno de los grupos.

El índice de masa corporal, se encuentra en ambos en niveles similares, están en situación de límite bajo de sobrepeso. En el grupo de citrulina se observa un descenso de 0.2 puntos comparándolo con sus valores basales. El estar cercanos al normo peso, el discreto periodo de seguimiento y el programa de ejercicio no intensivo al que hemos sometido a los participantes, hace prever que con pacientes con un IMC basal mayor, y un periodo de seguimiento mayor, las mejoras resultarían más evidentes..

En cuanto al registro del grado de adhesión al patrón de dieta mediterránea, mediante el cuestionario del estudio "PREDIMED", se observó una mayor adhesión en el grupo placebo. Dado que no se nos reportaron

efectos secundarios con las dosis utilizadas en los tratados con citrulina, este fenómeno no hace sino reforzar más los resultados positivos obtenidos en el grupo de intervención con citrulina, ya que a pesar de demostrar un patrón dietético “*menos deseable*”, los resultados en las pruebas realizadas apuntan hacia una mejora global de los parámetros estudiados.

En los valores de presión arterial y frecuencia cardíaca que basalmente eran muy similares, al estudiar el análisis “diferencial”, muestra una tendencia descendente en el grupo expuesto a citrulina, no obstante, no llega a alcanzar significación estadística. Estas diferencias de medias cercanas a 10 mm Hg, si se confirmaran en diseños posteriores podrían suponer una mejora significativa a la hora de disminución de riesgo cardiovascular.

X.10. Análisis del Ejercicio Físico

En este trabajo el planteamiento inicial en cuanto a la programación de la intervención de ejercicio físico, se limitó a un análisis de la actividad de los grupos de trabajo establecidos, perteneciente a las clases municipales para mayores de 60 años. De esta forma pudimos asegurarnos que todos los participantes realizaban un trabajo similar. Este análisis, recogido en la (Tabla 10), explica como se ha distribuido el entrenamiento equilibrado de las distintas capacidades físicas siguiendo una metodología homogénea.

En estas condiciones vemos que el desarrollo de las cualidades físicas en el periodo de estudio (6 semanas), mejoró en cada una de ellas siendo esta mejora superior al 10 %. Creemos que el planteamiento para actividades de mayores es adecuado y que además de buscar una motivación de bienestar físico, gasto de calorías, relaciones sociales y por supuesto mejora

de la condición física, existe otro componente muy importante en esta franja de edad, que es el entretenimiento saludable.

Por otro lado, si nuestro objetivo fuera exclusivamente la búsqueda de una mejora en el rendimiento físico, el planteamiento de la programación de los ejercicios sería diferente. Deberíamos organizar la programación del trabajo a semejanza de las periodizaciones que programan los deportistas de alto rendimiento.

X.11. Propuestas prácticas

El Ejercicio físico es la principal estrategia para paliar, frenar o incluso revertir los procesos fisiopatológicos asociados al desarrollo de la sarcopenia. Como hemos visto existen otras posibles dianas (nutricionales, metabólicas etc.) que pueden ayudar a evitar y disminuir las consecuencias de la sarcopenia. Sin embargo, el nexo común en todas las terapias descritas sigue siendo el ejercicio físico, resultando ser, además, el más eficaz.

Desde el punto de vista del desarrollo de las capacidades físicas, la mayor eficacia obtenida se sustenta en dos formas específicas de actividades:

- Ejercicio de desarrollo de la Resistencia: Ejercicios aeróbicos.
- Ejercicios de desarrollo de la Fuerza: Ejercicios de sobrecarga.

Los sistemas de entrenamiento para el desarrollo de estas capacidades físicas, aun existiendo diferentes corrientes, están bastante estandarizados. En cuanto a su desarrollo en personas mayores, hay mucho sobre lo que investigar. Consideramos que las propuestas de actividades son muy amplias y que todas ellas son utilizables, pero lo que falta en ellas es una sistemática y una aplicación de principios básicos en el desarrollo físico.

Los puntos clave en los que se debería apoyar este sistema son la conjunción de tres parámetros, el volumen de trabajo, la intensidad y la carga. Si tenemos en cuenta que los periodos de trabajo deben de tener una duración de aproximadamente una hora, el reparto del trabajo específico en la parte más intensa del periodo de trabajo estaría en 60 % para desarrollo de la resistencia aeróbica y 40 % para el trabajo de fuerza.

Tabla 31: Distribución del tiempo de trabajo para el entrenamiento de resistencia, de fuerza y otras actividades. Progresión de la carga de trabajo.

	Resistencia	Fuerza	Otros	Carga
1ª Semana	20 %	20 %	60 %	30 %
2ª Semana	25 %	20 %	55 %	40 %
3ª Semana	30 %	25 %	45 %	45 %
4ª Semana	35 %	25 %	40 %	50 %
5ª Semana	40 %	30 %	30 %	55 %
6ª Semana	45 %	30 %	25 %	60 %
7ª Semana	50 %	35 %	15 %	65 %
8ª Semana	55 %	40%	5 %	70 %

Según se muestra en la tabla 31, las actividades totales a realizar en cada sesión de entrenamiento se repartirían de una forma proporcional al tiempo disponible.

Consideramos que entre 6 y 8 semanas representarían una unidad básica de trabajo, siendo el tiempo imprescindible para que se produzca el

aprendizaje de los ejercicios y el rendimiento de los mismos en el desarrollo de las capacidades físicas. Siguiendo una programación del ejercicio tal como se muestra en la tabla 10 se deberían dar unos niveles de desarrollo adecuados a una organización de la actividad física prevista para la mejora de las cualidades físicas programadas.

X.12. Debilidades y fortalezas

X.12.1. Debilidades

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones, dados los recursos de los que disponíamos, la dificultad del reclutamiento ante la “*falta de confianza*” de la población a participar en estudios con intervenciones nutricionales y/o farmacológicas generó un tamaño de muestra final inferior al deseado. Esta falta de potencia estadística, generada por este pequeño tamaño muestral, es posible que haya generado que el efecto de la CM en los participantes del grupo intervención no hayan resultado ser significativos, pese a presentar un rango de magnitud elevado en algunos de ellos.

Además, el periodo de seguimiento se ajustó a la duración establecida de los cursos del Ayuntamiento para poder garantizar un seguimiento adecuado y poder realizar el programa de ejercicio con los medios e infraestructuras necesarias. Creemos que con más medios (personales, económicos etc.) y con un reclutamiento más ambicioso y durante un periodo de seguimiento más prolongado los resultados podrían arrojar mejoras mucho más importantes.

En nuestro estudio, los niveles de intensidad de trabajo durante el seguimiento fueron en torno a un 60%. Además, niveles de intensidad de

menos del 80 % no provocan adaptación suficiente como para producir una mejora en el rendimiento (197, 198). Por ello y sabiendo al grupo de personas que está destinado este estudio, es posible que sea razonable aspirar a un mantenimiento tanto de la condición física, como de los parámetros asociados a la salud y al bienestar, más que a una mejora sustancial, más propia de otros grupos de edad.

La falta de medios para valorar la calidad muscular en la sarcopenia, como DXA o RMN, CT, supone una limitación a la hora de utilizar un criterio más preciso en la medición del músculo y completar los parámetros diagnósticos de sarcopenia.

Los datos obtenidos de la realización de hemograma y bioquímica, no han arrojado significación estadística. No obstante, para poder interpretar correctamente todos los parámetros obtenidos en el análisis sanguíneo, creemos que 6 semanas es un tiempo limitado para que se vea traducido en cambios significativos en los parámetros estudiados.

Uno de los factores más limitantes de este proyecto, que más ha frustrado nuestras expectativas, ha sido la pérdida de las muestras de suero en el laboratorio por un error en su procesado. Se pretendía analizar parámetros mucho más sensibles a la hora de evaluar los procesos pro y anti-inflamatorios como son la proteína C reactiva, TNF α y distintas interleuquinas. Con el tiempo limitado de seguimiento del que disponíamos y la alta sensibilidad de estos parámetros, su registro y análisis podría haber cambiado de manera importante las conclusiones de este estudio.

X.12.2. Fortalezas

Los medios utilizados en nuestro estudio, son de fácil acceso. La parte más gravosa ha sido el coste de las analíticas. Por lo que la posibilidad de llevar a cabo un planteamiento similar con poblaciones a las que va destinado este trabajo-tratamiento es relativamente sencillo.

Obtuvimos una asistencia del 100% a las clases de actividad física y un abandono del 0%, lo que refuerza que el planteamiento ha sido adecuado y podrían plantearse para futuros estudios con mayor potencia.

Los programas de ejercicio bien estructurado como el propuesto, pueden ser implantados desde instituciones como ayuntamientos o centros de tercera edad.

La valoración de la función muscular resulta tan interesante como la valoración de la calidad muscular, además es posible que resulte más interesante y más útil la valoración del ejercicio que las propias imágenes de medios muy sofisticados y costosos.

CONCLUSIONES

XI.CONCLUSIONES

1º Observamos que todos los participantes en el estudio presentan una tendencia a la mejora en sus resultados, tanto a nivel de su valoración física como hemoanalítica.

2º En el grupo expuesto a citrulina. Se presentan variaciones significativas en aspectos de rendimiento físico, como la velocidad de marcha. Otros parametros como la resistencia y la fuerza tienen una expresión de mejora que también debe tenerse en cuenta. La mejora de los parametros de aptitud física son los más relevantes.

3º Los parametros hematologicos lipídicos mejoran significativamente con el tratamiento de malato de citrulina asociada al ejercicio.

4º El ejercicio físico es el instrumento más eficaz para el desarrollo de las capacidades físicas que más se deterioran en la sarcopenia, la fuerza y la resistencia. El apoyo con el aporte de aminoacidos como la citrulina y/o cambios en las hábitos nutricionales pueden mejorar los efectos del ejercicio.

5º Como era de esperar, el ejercicio físico ha supuesto un beneficio en la mejora de la condición física, pero no se ha demostrado un beneficio de todos los parámetros esperados, asociados a la toma del suplemento de citrulina con ejercicio, frente a ejercicio. Se necesitan nuevos estudios con un mayor tamaño muestral para ampliar el conocimiento sobre los efectos de este aminoácido bajo estas características de estudio.

ANEXOS

XII.ANEXOS

ANEXO I: Documento de consentimiento informado.

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre:

Apellidos:

DNI:

Investigador que le ha informado:

Con su participación en este estudio, se pretende ayudar a conocer la mejoría en cuanto a calidad de vida, capacidad física, fuerza muscular tras adherirse a un programa de ejercicio físico (tanto de fuerza como de resistencia) y a unos suplementos nutricionales que se prevé que ayuden a adaptarse a este ejercicio.

Su participación es **voluntaria y no remunerada**, pudiendo decidir no participar o, una vez iniciado dejar el estudio sin tener que aportar ninguna justificación.

El participante deberá poner en conocimiento de su médico de atención primaria la intención de participar en este estudio para garantizar el cumplimiento de los criterios de inclusión y la ausencia de criterios de exclusión.

Su participación durante un periodo de 6 Semanas, consiste en:

-Contestar a cuestionarios sobre actividad física habitual, hábitos nutricionales

-Someterse a reconocimiento médico- presión arterial, frecuencia cardíaca, peso, talla y valoración de composición corporal

-Realizar ejercicio físico pautado por los investigadores tanto de fuerza como de resistencia

-Aportar muestras de sangre para su análisis y estudio.

-Ingerir los suplementos nutricionales aportados por los investigadores.

La participación en este estudio **NO** supone un riesgo para su salud, ya que tanto el programa de ejercicio como los suplementos nutricionales son seguros y están adaptados a su edad y condición física.

Al tratarse de un ensayo clínico la asignación de cada participante a los distintos grupos de intervención (expuesto en el ANEXO) se realizará de forma aleatoria.

CAPÍTULO VII: ANEXOS

Tanto el procesamiento como el análisis de sus datos y muestras, así como la difusión de los resultados del estudio se harán de acuerdo con la legislación vigente y garantizando el anonimato de los participantes.

Junto con este consentimiento se adjunta un “ANEXO de información al participante” donde se expone de forma pormenorizada las características del proyecto.

Los investigadores quedan en todo momento a su disposición para resolver dudas sobre su participación.

***Marque con una “x” en la casilla correspondiente: Fecha (día/mes/año):**

	SI	NO
Acepto de forma voluntaria participar en el estudio : “ Efectos del ejercicio físico y los suplementos con citrulina, nitrato de sodio y L-Arginina sobre la sarcopenia”		
He leído y comprendido la Hoja de Información, entendiéndolo tanto los beneficios como los riesgos de la investigación, conociendo que me puedo retirar de forma voluntaria en cualquier momento.		
Mi participación en el estudio consiste en: realizar los test previos a la intervención (cuestionarios, test físicos, analítica sanguínea), adherirme a los requisitos acordados en función del grupo al que se me asigne.		
Doy permiso para que se me informe de los resultados obtenidos, así como de las cuestiones relevantes para mi salud que se deriven durante la realización o tras la presentación del estudio.		
Doy permiso para que los investigadores guarden datos codificados, por si pudieran ser de utilidad en futuros estudios		
Asumo que no recibiré ningún tipo de compensación económica por haber participado en este estudio.		
Tengo la información suficiente para poder contactar con los investigadores en caso de presentar cualquier duda sobre el estudio		
Comprendo que los datos aportados al estudio son confidenciales y ninguna persona que no pertenezca al equipo investigador podrá tener acceso a los mismos,		

Firma:

Voluntario participante	Investigador que informa

En caso de necesitar ponerse en contacto con los investigadores podrá hacerlo a través del teléfono 679524524 o la dirección de correo electrónico:

jfoliva@gmail.com

ANEXO II: Información y consentimiento informado.

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL ESTUDIO: "Efectos del ejercicio físico y los suplementos con citrulina, nitrato de sodio y L-arginina sobre la sarcopenia"

Nombre

Servicio

Centro

Teléfono

Invitamos a participar en una investigación sobre las mejoras que aporta el ejercicio físico y los suplementos nutricionales a base de nitratos, arginina y citrulina (aminoácidos) sobre la prevención de la sarcopenia (pérdida de masa y de función muscular asociada al envejecimiento).

El estudio ha sido aprobado por el comité de ética de Universidad de Elche.

Antes de que tome su decisión sobre si va o no a participar, se exponen los beneficios, riesgos y motivos de la investigación

¿Cuál es el motivo de este estudio?

Se pretende conocer la mejoría en cuanto a calidad de vida, capacidad física, fuerza muscular tras adherirse a un programa de ejercicio físico (tanto de fuerza como de resistencia) y a unos suplementos nutricionales que se prevé que ayuden a adaptarse a este ejercicio.

DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO:

-Participación y retirada: Su participación es voluntaria pudiendo decidir no participar o, una vez iniciado dejar el estudio sin tener que aportar ninguna justificación.

En caso de abandono, puede permitir que los datos obtenidos hasta el momento del abandono puedan ser utilizados en los análisis previstos en el estudio. Si no lo desea, sus datos y muestras pueden ser destruidas y eliminadas de los registros del estudio.

La intolerancia tanto al ejercicio como a los suplementos puede ser motivo de abandono del estudio, acción que se llevara de forma coordinada con los investigadores.

- ¿A quién está dirigido este estudio? Tanto a hombres como mujeres mayores de 60 años sanos, que no padezcan ninguna enfermedad que les imposibilite la realización de ejercicio físico tanto de fuerza como de resistencia (definidas con precisión en el documento aportado a su médico de atención primaria).

- ¿En qué consiste el estudio?

En la primera parte del estudio, los participantes serán evaluados por los investigadores en tres áreas:

-*Calidad de vida*: se pedirá que se cumplimente un cuestionario de 26 preguntas.

-*Hábitos nutricionales*: se pedirá que se cumplimente un cuestionario de 14 preguntas

-*Capacidad física y valoración muscular*: Se realizarán diversos test físicos.: sentadillas, fuerza de la mano, de la pierna, velocidad de la marcha y una prueba de resistencia (corriendo o andando rápido durante 6 minutos).

-*Actividad física habitual/nivel de función física*: se pedirá que se cumplimente un test de 20 preguntas.

-*Obtención de peso, talla presión arterial y frecuencia cardíaca en reposo*.

-*Obtención de 2 analíticas sanguíneas* para obtener los niveles de los marcadores sanguíneos que son objetivo de este estudio.

Tras la primera fase de caracterización de los participantes, se dividirá a los mismos en cinco grupos de manera totalmente aleatoria para asegurar el rigor del estudio. A un grupo se les dará consejos sobre el ejercicio físico y la dieta saludable adecuados para la edad, a otro se le incluirá en un programa adaptado de entrenamiento, al tercero se le incluirá en este programa y además se le suplementará con citrulina, al cuarto grupo se le incluirá en el mismo programa de actividad y se suplementará con nitrato de sodio y al quinto grupo se les incluirá en el programa de ejercicio físico y además recibirá un suplemento de L Arginina. El periodo de seguimiento será de 6 semanas. Tras este periodo se recogerán las variables anteriormente expuestas de nuevo, para estudiar los cambios tras el programa asignado.

-Asignación de la intervención: la pertenencia a un grupo o a otro del estudio se realizará de forma aleatoria, es decir, al azar. Esta forma de distribución es necesaria para garantizar la validez y fiabilidad del estudio. La asignación no será dada a conocer a los participantes para garantizar la fiabilidad y rigor del estudio. El pertenecer a cualquiera de los grupos en ningún momento va a suponer un empeoramiento en la salud o calidad de vida del participante.

-Actividades a realizar por el voluntario:

El participante deberá poner en conocimiento de su médico de atención primaria la intención de participar en este estudio para garantizar el cumplimiento de los criterios de inclusión y la ausencia de criterios de exclusión.

Como se ha explicado anteriormente, cada participante deberá rellenar los cuestionarios comentados en la sección anterior, facilitar mediante su centro de salud (médico o enfermero) una medida de presión arterial, peso, talla y frecuencia cardíaca y mostrar su consentimiento para la obtención de muestras sanguíneas para poder ser analizadas.

En el caso de que se le asigne el grupo de “programa de ejercicio” deberá adherirse al programa de entrenamiento propuesto por los investigadores y durante un total de 6 semanas además tomará los comprimidos suministrados por los investigadores para eliminar el efecto placebo. Por el contrario, si se le asigna al “programa de consejo” deberá atender a los consejos que se le facilitaran tanto de manera oral como por escrito, pero sin estar bajo la supervisión de los investigadores durante su realización. Por último, si se le asigna al grupo “programa de ejercicio + suplemento” deberá adherirse al entrenamiento propuesto durante un total de 6 semanas y además tomar los suplementos del estudio en forma de comprimidos.

Tras haber finalizado el periodo de intervención se volverá a realizar una analítica sanguínea, la cumplimentación de los distintos test realizados previamente y la medición de parámetros antropométricos, de capacidad física y de presión arterial y frecuencia cardíaca.

Los investigadores no tendrán acceso a su historial médico ni antecedentes personales más allá de los que se han expuesto en los párrafos anteriores.

Ante cualquier duda o problema que surja antes o durante la realización del estudio, los participantes pueden contactar con el personal investigador para la resolución de la misma.

RIESGO Y BENEFICIOS DE LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Se trata de un ensayo clínico en el que los riesgos asumidos por los participantes son bajos, no suponiendo en ningún caso el desarrollo de una enfermedad que comprometa la vida del participante. En cuanto a la realización de programas de ejercicio, puede derivarse las complicaciones habituales de la realización de cualquier deporte que se realice a una intensidad ligera/moderada: “calambres musculares”, rotura fibrilar, tendinopatías... Los suplementos (malato de citrulina, nitrato de sodio, y L-arginina) son complementos nutricionales ya comercializados y sujetos a la legislación Española, sin poseer efectos secundarios de importancia más allá de molestias digestivas (náuseas, vómitos, digestiones pesadas...) en algunas ocasiones.

EQUIPO INVESTIGADOR

El equipo está integrado por 2 médicos, un nutricionista y un Dr. en educación física que se comprometen a desarrollar su labor investigadora con rigor científico y en beneficio tanto de los participantes como de la población general.

ACCESO A DATOS PERSONALES Y PROTECCIÓN DE DATOS:

El tratamiento, cesión y comunicación de los datos de carácter personal se ajustará a los requisitos dispuestos por la ley orgánica 15/199 de 13 de diciembre de protección de datos. De acuerdo con la ley, usted puede acceder, modificar oponerse y cancelar los datos aportados para lo cual solo tiene que comunicarlo al investigador.

Los datos personales del estudio serán codificados mediante la asignación de una clave en forma de cifras y solo el personal investigador podrá relacionar dichos datos con su persona.

A la hora de presentar las conclusiones del estudio u otras publicaciones derivadas del mismo, sus datos permanecerán en todo momento anonimizados no siendo posible su identificación por parte de toda persona que acceda a leer los resultados.

Como participante, tiene derecho a conocer los resultados personales derivados de las distintas intervenciones realizadas, así como las conclusiones globales obtenidas del estudio. No podrá conocer los datos individuales del resto de participantes.

COMPENSACIÓN POR PARTICIPAR EN LA INVESTIGACIÓN

No está previsto ningún tipo de compensación económica. Los participantes recibirán los suplementos nutricionales de forma gratuita y el acceso a las instalaciones deportivas será también gratuito, no teniendo que realizar ningún tipo de inversión económica

FINANCIACIÓN DEL ESTUDIO

- Asociación deportiva de personas mayores (ADEPOMA).
- Servicio de Salud de Castilla y León.
- Universidad de Valladolid, Campus de Soria.
- Ayuntamiento de Soria
- Centro Alto Entrenamiento Provincial (CAEP).

DESTINO Y UTILIZACIÓN DE LAS MUESTRAS BIOLÓGICAS.

Las muestras sanguíneas obtenidas se pueden conservar para futuros proyectos relacionados con esta misma área de investigación, pudiendo cada

participante rechazar este almacenamiento. Si es así, se destruirán tras haber sido utilizada para la obtención de la información necesaria para este proyecto.

CESIÓN DE DATOS Y MUESTRAS A OTROS INVESTIGADORES

En investigación es habitual la colaboración con otros grupos de investigadores ya sea en el mismo o en otros países. En esta colaboración es común la cesión de los datos obtenidos durante la investigación. Este proceso se realiza ajustándose a la legislación vigente y los datos cedidos estarán codificados, garantizando así la imposibilidad de identificación de los sujetos de los que se han obtenido los datos.

En cualquier caso, usted puede denegar esta práctica comunicándoselo a los investigadores.

OTRA INFORMACIÓN IMPORTANTE

Si usted decide abandonar la investigación ningún nuevo dato será añadido en nuestra base de datos, pudiendo exigir la destrucción tanto de datos como de muestras biológicas previamente obtenidas.

Puede ser excluido del estudio si los investigadores lo consideraran necesario al haberse producido algún tipo de incidente que supusiera una pérdida de su seguridad, haber sufrido algún evento adverso, o por no adherirse a los requisitos pautados previamente

Tras finalizar el estudio recibirá información sobre los resultados del mismo y las conclusiones derivadas.

RIGOR CIENTÍFICO Y CUMPLIMIENTO DE REQUERIMIENTOS ÉTICOS

El estudio ha superado la aprobación del comité de ética de la Universidad de Elche. Este comité garantiza el cumplimiento de la legislación vigente en cuanto a investigación.

INVESTIGADORES: CONTACTO

En caso de tener dudas sobre cualquier aspecto del estudio, puede ponerse en contacto con Jorge Pascual Fernández a través de teléfono o correo electrónico facilitado en la copia del “consentimiento informado”

INCLUSIÓN EN EL ESTUDIO

Para ser incluido debe haber leído este documento de información, ponerse en contacto con su médico de atención primaria para cumplir con los requerimientos anteriormente desarrollados y firmar un consentimiento informada. Como ya hemos explicado el consentimiento informado es revocable en cualquier momento de la investigación.

ANEXO III: Cuestionario de actividad física.

NOMBRE:

CUESTIONARIO ACTIVIDAD FÍSICA

(Extraído cuestionario proyecto "SUN")

Lea atentamente las preguntas y rodee la respuesta adecuada

1- Cuando hace ejercicio o deporte siguiendo su modo típico de hacerlo, ¿Cuál cree que es el grado de intensidad en el esfuerzo? Puntúelo de 0 (mínimo posible) a 10 (máximo posible)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

2- Habitualmente, ¿cuánto tiempo andas al día?

<10min 10-20min 21-30min 1/2h-1h 1h-2h
>2h

3- Su paso habitual al andar es:

Lento Normal-medio Rápido Muy rápido

4- ¿Cuántos pisos sube al día por escaleras?

2 o menos 3-4 5-9 10-14 15 o mas

5- ¿Cuánto tiempo por término medio dedicó a las siguientes actividades en el último año?

6- Tiempo por término medio en las siguientes actividades en último año- distingue y contesta ENTRE SEMANA Y FIN DE SEMANA

	FRECUENCIA MEDIA DURANTE LA SEMANA										MES ES AL AÑO			
	Nunca	Minutos/semana			Horas/semana							<3	3-6	>6
		4	5-19	20-59	<1	1-1.5	2-3	4-5	7-10	>11				
Andar o pasear fuera de casa(Incluye golf)														
Correr/trotar despacio														
Correr Intenso/atletismo														
Pasear en bicicleta														
Bicicleta estática														
Nadar														
Tenis, frontón, pádel...														
Fútbol														
Otros deportes de equipo														
Ballet, danza, aerobic														
Senderismo, escalada														
Gimnasia														
Jardinería, bricolaje...														
Esquí, patinaje														
Artes marciales														
Vela														
Otras no mencionadas														

Tiempo al día	Día típico entre semana				Día típico de fin de semana			
	Nunca	<30 min	30-60 min	Horas/día	Nunca	<30 min	30-60min	Horas/día
Ver Tv				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Sentado ante pantalla ordenador				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Conduciendo				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Estar sentado(total)				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Dormir por las noches				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Tomando el sol (verano)				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Tomando el sol (Invierno)				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Salir con amigos				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
De pie en el trabajo				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Tareas domésticas				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9
Actividad de trabajo más intensa				1,2,3,4,5,6,7,8,9				1,2,3,4,5,6,7,8,9

ANEXO IV: Cuestionario internacional de actividad física (IPAQ)

SEXO: H F FECHA NACIMIENTO //

CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA (IPAQ)

Estamos interesados en averiguar acerca de los tipos de actividad física que hace la gente en su vida cotidiana. Las preguntas se referirán al tiempo que usted destinó a estar físicamente activo en los **últimos 7 días**. Por favor responda a cada pregunta aún si no se considera una persona activa. Por favor, piense acerca de las actividades que realiza en su trabajo, en las tareas domésticas o en el jardín, en sus desplazamientos, en el tiempo libre, el ejercicio o el deporte.

Piense en todas las actividades **INTENSAS** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Las actividades físicas **intensas** se refieren a aquellas que implican un esfuerzo físico intenso y que lo hacen respirar mucho más intensamente que lo normal. Piense **solo** en aquellas actividades físicas que realizó durante por lo menos **10 minutos** seguidos.

1. Durante los últimos 7 días, ¿en cuantos realizó actividades físicas intensas tales como levantar cargas pesadas, cavar, hacer ejercicios aeróbicos o pedalear en bicicleta de forma intensa?

_____ **días por semana** Ninguna actividad física intensa Vaya a la pregunta 3

2. Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física intensa en uno de esos días?

_____ **horas por día minutos por día** No sabe / No está seguro

Piense en todas las actividades **MODERADAS** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Las actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado que lo hace respirar algo más intensamente que lo normal. Piense solo en aquellas actividades físicas que realizó durante por lo menos **10 minutos** seguidos.

3. Durante los últimos 7 días, ¿en cuántos días hizo actividades físicas moderadas como transportar pesos livianos, pedalear en bicicleta a velocidad normal o jugar dobles a tenis? No incluya caminar.

_____ **días por semana** Ninguna actividad física moderada Vaya a la pregunta 5

4. Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física moderada en uno de esos días?

_____ **horas por día minutos por día** No sabe / No está seguro

Piense en el tiempo que usted dedicó a **CAMINAR** en los **últimos 7 días**. Esto incluye caminar en el trabajo o en la casa, para trasladarse de un lugar a otro, o cualquier otra caminata que usted podría hacer solamente para la recreación, el deporte, el ejercicio o el ocio.

5. Durante los últimos 7 días, ¿En cuántos caminó por lo menos 10 minutos seguidos?

_____ **días por semana** □ **Ninguna caminata** □ *Vaya a la pregunta 7*

6. Habitualmente, ¿cuánto tiempo en total dedicó a caminar en uno de esos días?

_____ **horas por día minutos por día** □ **No sabe / No está seguro**

La última pregunta es acerca del tiempo que pasó usted **SENTADO** durante los días laborables de los **últimos 7 días**. Esto incluye el tiempo dedicado al trabajo, en la casa, en una clase, y durante el tiempo libre. Puede incluir el tiempo que pasó sentado ante un escritorio, visitando amigos, leyendo, viajando en automóvil o autobús, sentado o recostado mirando la televisión.

7. Durante los últimos 7 días ¿cuánto tiempo pasó sentado durante un día hábil?

_____ **horas por día minutos por día** □ **No sabe / No está seguro**

ANEXO V: Cuestionario Predimed.SEXO: H F FECHA NACIMIENTO //**CUESTIONARIO SOBRE ALIMENTACIÓN (ESTUDIO PREDIMED)**

PREGUNTAS	MARQUE O APUNTE AQUÍ SU RESPUESTA
1. ¿Usa usted el aceite de oliva como principal grasa para cocinar?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
2. ¿Cuánto aceite de oliva consume en total al día (incluyendo el usado para freír, comidas fuera de casa, ensaladas, etc.)?	<input type="checkbox"/> <2 <input type="checkbox"/> 2-3 <input type="checkbox"/> 4 o más cucharadas
3. ¿Cuántas raciones de verdura u hortalizas consumen al día ? (las guarniciones o acompañamientos = 1/2 ración) 1 ración = 200 g	
4. ¿Cuántas piezas de fruta (incluyendo zumo natural) consume al día ?	<input type="checkbox"/> 0 <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 o más
5. ¿Cuántas raciones de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos consume al día ? (ración: 100 - 150 g)	<input type="checkbox"/> < 1 al día <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 o más.
6. ¿Cuántas raciones de mantequilla, margarina o nata consumen al día ? (porción individual: 12 g)	<input type="checkbox"/> < 1 al día <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 o más
7. ¿Cuántas bebidas carbonatadas y/o azucaradas (refrescos, colas, tónicas, bitter) consume al día ? (200 cc / botella pequeña)	<input type="checkbox"/> < 1 al día <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 o más
8. ¿Bebe usted vino? ¿Cuánto consume a la semana ? (1 vaso = 200 cc)	
9. ¿Cuántas raciones de legumbres consume a la semana ? (1 plato o ración de 150 g)	
10. ¿Cuántas raciones de pescado-mariscos consume a la semana ? (1 plato pieza o ración: 100 - 150 de pescado o 4 - 5 piezas o 200 g de marisco)	
11. ¿Cuántas veces consume repostería comercial (no casera) como galletas, flanes, dulce o pasteles a la semana ?	
12. ¿Cuántas veces consume frutos secos a la semana ? (ración 30 g)	

13. ¿Consume usted preferentemente carne de pollo, pavo o conejo en vez de ternera, cerdo, hamburguesas o salchichas? (carne de pollo: 1 pieza o ración de 100 - 150 g)	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No
14. ¿Cuántas veces a la semana consume los vegetales cocinados, la pasta, arroz u otros platos aderezados con salsa de tomate, ajo, cebolla o puerro elaborada a fuego lento con aceite de oliva (sofrito)?	

ANEXO VI: Calendario de alimentación.

Calendario de alimentación: **Código:** _____

<u>1º DIA:</u>	Alimentos	Líquidos
Desayuno	- -	
Media Mañana		
Comida	- - -	
Merienda		
Cena	- - -	
Extras		

2º DIA:

	Alimentos	Líquidos
Desayuno	- -	
Media Mañana		
Comida	- - -	
Merienda		
Cena	- - -	
Extras		

3º DIA:

	Alimentos	Líquidos
Desayuno	- -	
Media Mañana		
Comida	- - -	
Merienda		
Cena	- - -	
Extras		

Calendario de alimentación

4º DIA:	Alimentos	Líquidos
Desayuno	- -	
Media Mañana		
Comida	- - -	
Merienda		
Cena	- - -	
Extras		

5º DIA:

	Alimentos	Líquidos
Desayuno	- -	
Media Mañana		
Comida	- - -	
Merienda		
Cena	- - -	
Extras		

6º DIA:

	Alimentos	Líquidos
Desayuno	- -	
Media Mañana		
Comida	- - -	
Merienda		
Cena	- - -	
Extras		

7° DIA:

	Alimentos	Líquidos
Desayuno	- -	
Media Mañana		
Comida	- - -	
Merienda		
Cena	- - -	
Extras		

ANEXO VII: Indicadores de bienestar.

Antes de empezar con la prueba nos gustaría que contestara unas preguntas generales sobre usted: haga un círculo en la respuesta correcta o conteste en el espacio en blanco.

Sexo: Hombre Mujer
 ¿Cuándo nació? Día Mes Año
 ¿Qué estudios tiene? Ninguno Primarios Medios Universitarios
 ¿Cuál es su estado civil? Soltero /a Separado/a Casado/a Divorciado/a En
 pareja Viudo/a
 ¿En la actualidad, está enfermo/a?
 Sí No
 Si tiene algún problema con su salud, ¿Qué piensa que es?:

Enfermedad/ Problema

Instrucciones: Este cuestionario sirve para conocer su opinión acerca de su calidad de vida, su salud y otras áreas de su vida. Por favor conteste todas las preguntas. Si no está seguro/a de qué respuesta dar a una pregunta, escoja la que le parezca más apropiada. A veces, ésta puede ser la primera respuesta que le viene a la cabeza.

Tenga presente su modo de vivir, expectativas, placeres y reocupaciones. Le pedimos que piense en su vida durante las dos últimas semanas. Por ejemplo, pensando en las dos últimas semanas, se puede preguntar:

	Nada	Un poco	Moderado	Bastante	Totalmente
¿Obtiene de otras personas el apoyo que necesita?	1	2	3	4	5

Rodee con un círculo el número que mejor defina cuánto apoyo obtuvo de otras personas en las dos últimas semanas. Si piensa que obtuvo bastante apoyo de otras personas, usted debería señalar con un círculo el número 4, quedando la respuesta de la siguiente forma:

	Nada	Un poco	Moderado	Bastante	Totalmente
¿Obtiene de otras personas el apoyo que necesita?	1	2	3	④	5

Recuerde que cualquier número es válido, lo importante es que represente su opinión

Por favor, lea la pregunta, valore sus sentimientos y haga un círculo en el número de la escala que represente mejor su opción de respuesta.

		Muy mala	Regular	Normal	Bastante Buena	Muy Buena
1	¿Cómo calificaría su calidad de vida?	1	2	3	4	5

		Muy Insatisfecha	Un poco Insatisfecha	Lo Normal	Bastante Satisfecha	Muy Satisfecha
	¿Cómo de satisfecha está con su salud?	1	2	3	4	5

Las siguientes preguntas hacen referencia al grado en que ha experimentado ciertos hechos en las dos últimas semanas.

		Nada	Un poco	Lo normal	Bastante	Extremadamente
3	¿Hasta qué punto piensa que el dolor (físico) le impide hacer lo que necesita?	1	2	3	4	5
4	¿En qué grado necesita un tratamiento médico para funcionar en su vida diaria?	1	2	3	4	5
5	¿Cuánto disfruta de la vida?	1	2	3	4	5
6	¿Hasta qué punto siente que su vida tiene sentido?	1	2	3	4	5
7	¿Cuál es su capacidad de concentración?	1	2	3	4	5
8	¿Cuánta seguridad siente en su vida diaria?	1	2	3	4	5
9	¿Cómo de saludables es el ambiente físico a su alrededor?	1	2	3	4	5

Las siguientes preguntas hacen referencia a si usted experimenta o fue capaz de hacer ciertas cosas en las dos últimas semanas, y en qué medida.

		Nada	Un poco	Lo normal	Bastante	Extremadamente
10	¿Tiene energía suficiente para la vida diaria?	1	2	3	4	5
11	¿Es capaz de aceptar su apariencia física?	1	2	3	4	5
12	¿Tiene suficiente dinero para cubrir sus necesidades?	1	2	3	4	5
13	¿Dispone de la información que necesita para su vida diaria?	1	2	3	4	5

CAPÍTULO VII: ANEXOS

14	¿Hasta qué punto tiene oportunidad de realizar actividades de ocio?	1	2	3	4	5
15	¿Es capaz de desplazarse de un lugar a otro?	1	2	3	4	5

Las siguientes preguntas hacen referencia a si en las dos últimas semanas se ha sentido satisfecho/a y cuánto, en varios aspectos de su vida.

		Muy insatisfecho/a	Poco	Lo Normal	Bastante Satisfecho/a	Muy Satisfecho/a
16	¿Cómo de satisfecho/a está con su sueño?	1	2	3	4	5
17	¿Cómo de satisfecho/a está con su habilidad para realizar sus actividades de la vida diaria?	1	2	3	4	5
18	¿Cómo de satisfecho/a está con su capacidad de trabajo?	1	2	3	4	5
19	¿Cómo de satisfecho/a está de sí mismo?	1	2	3	4	5
20	¿Cómo de satisfecho/a está con sus relaciones personales?	1	2	3	4	5
21	¿Cómo de satisfecho/a está con su vida sexual?	1	2	3	4	5
22	¿Cómo de satisfecho/a está con el apoyo que obtiene de sus amigos/as?	1	2	3	4	5
23	¿Cómo de satisfecho/a está de las condiciones del lugar donde vive?	1	2	3	4	5
24	¿Cómo de satisfecho/a está con el acceso que tiene a los servicios sanitarios?	1	2	3	4	5
25	¿Cómo de satisfecho/a está con los servicios de transporte de su zona?	1	2	3	4	5

La siguiente pregunta hace referencia a la frecuencia con que usted ha sentido o experimentado ciertos sentimientos en las dos últimas semanas.

		Nunca	Raramente	Moderadamente	Frecuentemente	Siempre
26	¿Con qué frecuencia tiene sentimientos negativos, tales como tristeza, desesperanza, ansiedad, o depresión?	1	2	3	4	5

¿Le ha ayudado alguien a rellenar el cuestionario?

¿Cuánto tiempo ha tardado en contestarlo?

¿Le gustaría hacer algún comentario sobre el cuestionario?

GRACIAS POR SU AYUDA

BIBLIOGRAFIA

CAPÍTULO VIII: BIBLIOGRAFIA

XIII.BIBLIOGRAFÍA

1 - World Health Organization. «Ageing and life course.» 2009.

2 - Lenk K, Schuler G, Adams V. « *Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training.*» *J Cachex Sarcopenia Muscle*, 2010: 1 :9-21.

3 - Kamiya Y, Hertog S. « Measuring household and living arrangements of older persons around the world: The United Nations Database on the Households and Living Arrangements of Older Persons 2019.» *Department of Economic and Social Affairs.United Nation*, 2020: 1:1-42.

4 - Baumgartner RN, Koehler KM, Gallagher D, et al. «Epidemiology of sarcopenia among the elderly in New Mexico.» *Am J Epidemiol*,1998: 147:755–763.

5 - Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, et al. «The healthcare costs of sarcopenia in the United States.» *J Am Geriatr Soc. v*, 2004: 52:80–85.

6 - Newman AB, Lee JS, Visser M, et al. «Weight change and the conservation of lean mass in old age: the Health, Aging and Body Composition Study.» *Am J Clin Nutr*, 2005: 82 :872–878.

7 - Braga M, Sinha Hikim AP, Datta S, et al. «Involvement of oxidative stress and caspase 2-mediated intrinsic pathway signaling in age-related increase in muscle cell apoptosis in mice.» *Apoptosis*, 2008: 13: 822–832.

8 - Carter CS, Hofer T, Seo AY, et al. «Molecular mechanisms of lifeand health-span extension: role of calorie restriction and exercise intervention.» *Appl Physiol Nutr Metab*, 2007: 32: 954-66.

9 - Rolland Y, Van Kan GA, Gillette-Guyonnet S, et al. «Cachexia versus sarcopenia.» *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.*, 2011: 14:15-21.

10 - Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM et al. «Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: report of the European working group on sarcopenia in older people.» *Age Ageing*, 2010: 39: 412–23.

11 - Fielding RA, Vellas B, Evans WJ, et al. «Sarcopenia: An Undiagnosed Condition in Older Adults. Current Consensus Definition: prevalence, etiology, and consequences. International working group on sarcopenia.» *J Am Med Dir Assoc*, 2011: 12: 249-256.

12 - Welle S. «Cellular and molecular basis of age-related sarcopenia.» *Can J Appl Physiol*, 2002: 27:19-41.

13 - Kamel HK. «Sarcopenia and aging.» *Nutr Rev*, 2003: 61 :157–67.

14 - Rosenberg, IH. «Summary comments: epidemiological and methodological problems in determining nutritional status of older persons.» *Am J Clin Nutr.*, 1989: 50:1231–1233.

15 - Rosenberg IH. «Sarcopenia: origins and clinical relevance.» *Clin Geriatr Med*. 2011: 27:337-9.

16 - Olde Rikkert MG, Rigaud AS, van Hoeyweghen RJ, et al. «Geriatric syndromes: medical misnomer or progress in geriatrics?» *Neth J Med.*, 2002: 61:83–87.

17 - Cruz-Jentoft AJ, Landi F, Topinková E, et al. «Understanding sarcopenia as a geriatric syndrome.» *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2010: 13:1-7.

18 - Kim TN, Choi KM. «Sarcopenia: definition, epidemiology, and pathophysiology.» *J Bone Metab*, 2013: 20:1-10.

19 - Janssen I, Baumgartner RN, Ross R, et al. «Skeletal muscle cutpoints associated with elevated physical disability risk in older men and women.» *Am J Epidemiol*, 2004: 159:413-421.

20 - Janssen I, Heymsfield SB, Ross R. «Low relative skeletal muscle mass (sarcopenia) in older persons is associated with functional impairment and physical disability.» *J Am Geriatr Soc.*, 2002: 50:889–896.

21 - Kim TN, Yang SJ, Yoo HJ, et al. «Prevalence of sarcopenia and sarcopenic obesity in Korean adults: the Korean sarcopenic obesity study.» *Int J Obes (Lond)*, 2009: 33:885–892.

22 - Newman AB, Kupelian V, Visser M, et al. «Sarcopenia: alternative definitions and associations with lower extremity function.» *J Am Geriatr Soc*, 2003: 51:1602–1609.

23 - Delmonico MJ, Harris TB, Lee JS, et al. «Alternative definitions of sarcopenia, lower extremity performance, and functional impairment with aging in older men and women.» *J Am Geriatr Soc*, 2007: 55:769–774.

24 - Schakman O, Gilson H, Thissen JP. «Mechanisms of glucocorticoid-induced myopathy.» *J Endocrinol*, 2008: 197:1–10.

25 - Awede BL, Thissen JP, Lebacqz J. «Role of IGF-I and IGF-BPs in the changes of mass and phenotype induced in rat soleus muscle by clenbuterol.» *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002: 282:31–37.

26 - Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, et al. «Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis [published correction appears in *Age Ageing*.]» *Age Ageing*, 2019: 8:16-31.

27- Mijnders DM, Koster A, Schols JM et al. «Physical activity and incidence of sarcopenia: the population-based AGES-Reykjavik Study.» *Age Ageing*, 2016: 45 :614–20.

28 - Baumgartner RN, WD . «Sarcopenia and sarcopenic-obesity.» *Principles and Practice of Geriatric Medicine*, 2006: 2:909–933.

29 - Huygens W, Thomis MA, Peeters MW et al. «Linkage of myostatin pathway genes with knee strength in humans.» *Physiol Genomics*, 2004: 17:264–70.

30 - Huygens W, Thomis MA, Peeters MW et al. «Quantitative trait loci for human muscle strength: linkage analysis of myostatin pathway genes.» *Physiol Genomics*, 2005: 22:390–7.

31 - Wei W, Fareed MU, Evenson A, et al. «Sepsis stimulates calpain activity in skeletal muscle by decreasing calpastatin activity but does not activate caspase-3.» *Am. J. Physiol*, 2004: 288:580–590.

32 - Pfeifer M, Begerow B, Minne HW. «Vitamin D and muscle function.» *Osteoporos Int.*, 2002: 13 :187–94.

33 - Roth SM, et al. «Vitamin D receptor genotype is associated with fat-free mass and sarcopenia in elderly men.» *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 2004: 59:10–15.

34 - Jozsi AC, Campbell WW, Joseph L, et al. «Changes in power with resistance training in older and younger men and women.» *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.*, 1999: 54:591–596.

35 - Pascual J, Fernández A, Córdova A, et al. «Sarcopenia: Molecular Pathways and Potential Targets for Intervention.» *Int J Mol Sci.*, 2020: 21: 8844-16.

36 - Fiatarone MA, O'Neill EF, Ryan ND, et al. «Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people.» *N Engl J Med.*, 1994: 330:1769–75.

37 - Porter MM, Vandervoort AA, Lexell J. . «Aging of human muscle: structure, function and adaptability.» *Scand J Med Sci Sports.*, 1995: 5:129–42.

38 - Tallis J, James RS, Seebacher F. «The effects of obesity on skeletal muscle contractile function.» *J Exp Biol.*, 2018: 6:221-14.

39 - García ML, Fernández A, Solas MT. «Mitochondria, motor neurons and aging.» *J Neurol Sci.*, 2013: 330:18–26.

40 - Gonzalez-Freire M, de Cabo R, Studenski SA, et al. «The neuromuscular junction: aging at the crossroad between nerves and muscle.» *Front Aging Neurosci.*, 2014: 11:6-208.

41 - Gómez LA, Hagen TM. «Age-related decline in mitochondrial bioenergetics: does supercomplex destabilization determine lower oxidative capacity and higher superoxide production?» *Semin Cell Dev Biol.*, 2012: 23:758–767.

42 – Ali S, Garcia JM. «Sarcopenia, Cachexia and Aging: Diagnosis, Mechanisms and Therapeutic Options.» *Gerontology.* 2015, 60:294-305.

43 - Sandri M. «Signaling in muscle atrophy and hypertrophy.» *Physiology (Bethesda)*, 2008: 23:160-70.

44 - Calvani R, Joseph A M, Adihetty PJ, et al. «Mitochondrial pathways in sarcopenia of aging and disuse muscle atrophy.» *Biological Chemistry*, 2013: 394:393–414.

45 - Pak JW, Herbst A, Bua E, et al. «Mitochondrial DNA mutations as a fundamental mechanism in physiological declines associated with aging.» *Aging cell.*, 2003: 2:1–7.

46 - Choksi KB, Boylston WH, Rabek JP, et al. «Oxidatively damaged proteins of heart mitochondrial electron transport complexes.» *Biochim Biophys Acta*, 2004: 1688:95–101.

47 - Choksi KB, Papaconstantinou J. «Age-related alterations in oxidatively damaged proteins of mouse heart mitochondrial electron transport chain complexes.» *Free Radic Biol Med*, 2008: 44:1795–805.

48 - Weisiger RA, Fridovich I. « Superoxide dismutase. Organelle specificity.» *Journal of Biological Chemistry*, 1973: 248 :3582–3589.

49 - Alexeyev MF. «Is there more to aging than mitochondrial DNA and reactive oxygen species?» (*FEBS Journal*.) 2009: 276:5768–5787.

50 - Dröge W. «Free radicals in the physiological control of cell function.» *Physiological Reviews*, 2002: 82:47–95.

51 - Clément MV, Pervaiz S. «Reactive oxygen intermediates regulate cellular response to apoptotic stimuli: an hypothesis.» *Free Radical Research*, 1999: 30:247–252. .

52 - Leiter JR, Anderson J. Peeler J. «Exercise-induced muscle growth is muscle-specific and age-dependent.» *Muscle & Nerve*, 2011: 43 :828-838.

53 - Marchi S, Giorgi C, Suski JM, et al. «Mitochondria-ros crosstalk in the control of cell death and aging.» *J Signal Transduct*, 2012: 2012:329635-17.

54 - Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. «Radical causes of cancer.» *Nature Reviews Cancer*., 2003: 3:276–285.

55 - Suh JH, Heath SH, Hagen TM. «Two subpopulations of mitochondria in the aging rat heart display heterogenous levels of oxidative stress.» *Free Radic Biol Med.*, 2003: 35:1064–72.

56 - Fry CS, Drummond MJ, Glynn EL. «Aging impairs contraction-induced human skeletal muscle mTORC1 signaling and protein synthesis.» *Skelet Muscle*, 2011: 1:1-11.

57 - Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, et al. «The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling.» *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010: 11:329-341.

58 - Goldberg AL. «Protein turnover in skeletal muscle. I. Protein catabolism during work-induced hypertrophy and growth induced with growth hormone.» *J Biol Chem*, 1969: 244:3217–3222.

59 - Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, et al. «Trends in oxidative aging theories.» *Free Rad. Biol. Med*, 2007: 43:477–503.

60 - McManus EJ, Collins BJ, Ashby PR, et al. «The in vivo role of PtdIns(3,4,5)P3 binding to PDK1 PH domain defined by knockin mutation.» *EMBO J.*, 2004: 23:2071-2082.

61 - Ziaaldini MM, Marzetti E, Picca A, et al. «Biochemical Pathways of Sarcopenia and Their Modulation by Physical Exercise: A Narrative Review.» *Front Med (Lausanne)*, 2017: 4:167-8.

62 - Sakuma K, Yamaguchi A. «Sarcopenia and Age-Related Endocrine Function.» *Int J Endocrinol*, 2012: 2012:127362-10.

63 - Mounier R, Lantier L, Leclerc J, et al. «Antagonistic control of muscle cell size by AMPK and mTORC1.» *Cell Cycle*, 2011: 2640– 2646.

64 - Liguori I, Russo G, Aran L, et al. «Sarcopenia: assessment of disease burden and strategies to improve outcomes.» *Clin Interv Aging*, 2018: 13:913–927.

65 - Sandri M, Sandri C, Gilbert A, et al. «Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy.» *Cell Metab*, 2004: 117:399-412.

66 - Daly RM, Gianoudis J, Prosser M, et al. «The effects of a protein enriched diet with lean red meat combined with a multi-modal exercise program on muscle and cognitive health and function in older adults:study protocol for a randomised controlled trial.» *Trials*, 2015: 2015:16:339-355.

67 - Mizushima N, Yoshimori T, Levine B. «Methods in mammalian autophagy research.» *Cell.*, 2010: 140:313-326.

68 - Powers S K, Jackson MJ. «Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production.» *Physiol.*, 2008: 88:1243–1276.

69 - Sies H, Jones DP. « Oxidative stress: impact in redox biology and medicine.» *Archives of Medical and Biomedical Research*, 2016, 2:146-150.

70 - Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, et al. «Redox regulation of cell survival.» *Antioxid. Redox Signal*, 2008: 10:1343–1374.

71 - Reid, MB. «Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC.» *Free Radic. Biol. Med.*, 2008: 44:169–179.

72 - Larsson L, Degens H, Li M, et al. «Sarcopenia: Aging-Related Loss of Muscle Mass and Function.» *Physiol Rev*, 2019: 99:427-511.

73 - Pedersen BK. «The disease of physical inactivity--and the role of myokines in muscle--fat cross talk.» *J Physiol*, 2009: 587:5559–5568.

74 - Melton LJ, S Khosla, C S Crowson, et al. «Epidemiology of sarcopenia.» *J Am Geriatr Soc*, 2000: 48:625–30.

75 - Boirie Y, Short K R , Ahlmanet B, et al. «Tissue-specific regulation of mitochondrial and cytoplasmic protein synthesis rates by insulin.» *Diabetes*, 2001: 50:2652–8.

76 - Rolland YM, Perry H M, Banks W A, et al. «Loss of appendicular muscle mass and loss of muscle strength in young postmenopausal women.» *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2007: 62:330–335.

77 - Morley, JE. «Hormones and Sarcopenia.» *Curr Pharm Des.*, 2017: 23:4484-4492.

78 - Kramer PR, Kramer SF, Guan G. «17 beta-estradiol regulates cytokine release through modulation of CD16 expression in monocytes and monocyte-derived macrophages.» *Arthritis Rheum*, 2004: 50:1967–75.

79 - Volpi E, Nazemi R, Fujita S. «Muscle tissue changes with aging.» *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2004: 7:405–10.

80 - Brown M. «Skeletal muscle and bone: effect of sex steroids and aging.» *Advances in Physiology Education*, 2008: 32:120–126.

81 - Chen Y, Zajac JD, MacLean HE. «Androgen regulation of satellite cell function.» *J Endocrinol*, 2005: 186:21–31.

82 - Galvao DA, Taaffe DR, Spry N, et al. «Exercise can prevent and even reverse adverse effects of androgen suppression treatment in men with prostate cancer.» *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2007: 10:340-346.

83 - Borst SE. «Interventions for sarcopenia and muscle weakness in older people.» *Age Ageing*, 2004: 33:548–55.

84 - Clarke BA, Drujan D, Willis MS, et al. «The E3 Ligase MuRF1 degrades myosin heavy chain pro-teín in dexamethasone-treated skeletal muscle.» *Cell Metab*, 2007: 6:376–385.

85 - Schiaffino S1, Dyar KA, Ciciliot S, et al. «Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy.» *FEBS J*, 2013: 280:4294-314.

86 - Yang JL, Lin YT, Chuang PC, et al. «BDNF and exercise enhance neuronal DNA repair by stimulating CREB mediated production of apurinic/aprimidinic endonuclease 1.» *NeuroMolecular Med*, 2014: 16:161–174.

87 - Pedersen BK. «Edward F. Adolph Distinguished Lecture: Muscle as an endocrine organ: IL-6 and other myokines.» *J Appl Physiol*, 2009: 107:1006-1014.

88 - Pedersen BK, Febbraio MA. «Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6.» *Physiol Rev*, 2008: 88:1379-1406.

89 - Steensberg A, Keller C, Hillig T, et al. «Nitric oxide production is a proximal signaling event controlling exercise-induced mRNA expression in human skeletal muscle.» *FASEB J*, 2007: 21:2683–2694.

90 - Fan J, Kou X, Yang Y, et al. «MicroRNA-Regulated Proinflammatory Cytokines in Sarcopenia.» *Mediators Inflamm*, 2016: 2016:1438686-9.

91 - Cappola AR, Xue QL, Ferrucci L, et al. «Insulin-like growth factor I and interleukin-6 contribute synergistically to disability and mortality in older women.» *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2003: 88:2019–2025.

92 - White JP, Puppa MJ, Gao S, et al. «Muscle mTORC1 suppression by IL-6 during cancer cachexia: a role for AMPK.» *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013: 304:1042-1052.

93 - Clavel S, Coldefy AS, Kurkdjian E, et al. «Atrophy-related ubiquitin ligases, atrogin-1 and MuRF1 are up-regulated in aged rat Tibialis Anterior muscle.» *Mech Ageing Dev*, 2006: 127:794-801.

94 - Girven M, Dugdale H F, Owens DJ, et al. «L-glutamine improves skeletal muscle cell differentiation and prevents myotube atrophy after cytokine (TNF- α) stress via reduced p38 MAPK signal transduction.» *J Cell Physiol*, 2016: 231:2720-2732.

95 - Zhao Q, Yang ST, Wang JJ, et al. «TNF alpha inhibits myogenic differentiation of C2C12 cells through NF- κ B activation and impairment of IGF-1 signaling pathway.» *Biochem Biophys Res Commun*, 2015: 458:790–795.

96 - Judge AR, Koncarevic A, Hunter RB, et al. «Role for I κ B α , but not c-Rel, in skeletal muscle atrophy.» *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007: 292:372–382.

97 - Meng SJ, Yu LJ. «Oxidative stress, molecular inflammation and sarcopenia.» *Int J Mol Sci*, 2010: 11:1509-1526.

98 - Palomero J, Jackson MJ. «Redox regulation in skeletal muscle during contractile activity and aging.» *Journal of Animal Science*, 2010: 88:1307–1313.

99 – Córdova A, Sureda A, Pons A . «Modulation of TNF- α , TNF- α receptors and IL-6 after treatment with AM3 in professional cyclists. » *J Sports Med Phys Fitness*, 2015: 55:345-51.

100 - Lord C. «Dietary animal protein intake: association with muscle mass index in older women.» *J Nutr Health Aging*, 2007: 11:383–7.

101- Volpi E, Kobayashi H, Sheffield-Moore M, et al. «Essential amino acids are primarily responsible for the amino acid stimulation of muscle protein anabolism in healthy elderly adults.» *Am J Clin Nutr*, 2003: 78:250–8.

102 - Lee JS, Auyeung T, Kwok T, et al. «Associated Factors and Health Impact of Sarcopenia in Older Chinese Men and Women: A Cross-Sectional Study.» *Gerontology*, 2007: 53:166–172.

103 - Raguso CA, Kyle U, Kossovsky MP, et al. «A 3-year longitudinal study on body composition changes in the elderly: role of physical exercise.» *Clin Nutr*, 2006: 25:573–80.

104 – Córdova A, Pascual J, Fernandez D, et al. «Muscular and heart adaptations of exercise in hypoxia. Is training in slow hypoxia healthy? » *Med Clin (Barc)*, 2017: 23;148:469-474.

105 - Malmstrom TK, Miller DK, Simonsick EM, et al. «SARC-F: a symptom score to predict persons with sarcopenia at risk for poor functional outcomes.» *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2016: 7:28-36.

106 - Woo J, Leung J, Morley JE. «Defining sarcopenia in terms of incident adverse outcomes.» *J Am Med Dir Assoc*, 2015: 16:247–52.

107 - Bahat G, Yilmazi O, Kilic C et al. «Performance of SARC-F in regard to sarcopenia definitions, muscle mass and functional measures.» *J Nutr Health Aging*, 2018: 22:898-903.

108 - Ishii S, Tanaka T, Shibasaki K, et al. «Development of a simple screening test for sarcopenia in older adults.» *Geriatr Gerontol Int*, 2014: 1:93-101.

109 - Ibrahim K, May C, Patel HP et al. «A feasibility study of implementing grip strength measurement into routine hospital practice (GRImP): study protocol.» *Pilot Feasibility Stud*, 2016: 6:2-27.

110 – Schweitzer L, Geisler C, Pourhassan M, et al. «What is the best reference site for a single MRI slice to assess whole-body skeletal muscle and adipose tissue volumes in healthy adults?» *Am J Clin Nutr.*, 2015: 102:58-65.

111 - Masanes F, Rojano ILX, Salva A et al. «Cut-off points for muscle mass—not grip strength or gait speed—determine variations in sarcopenia prevalence.» *J Nutr Health Aging*, 2017: 21:825–829.

112 - Yamada Y, Nishizawa M, Uchiyama T et al. «Developing and validating an age-independent equation using multi-frequency bioelectrical impedance analysis for estimation of appendicular skeletal muscle mass and establishing a cutoff for sarcopenia. » *Int J Environ Res Public Health*, 2017: 19:14-809.

113 - Bergland A, Jorgensen L, Emaus N et al. «Mobility as a predictor of all-cause mortality in older men and women: 11.8 year follow-up in the Tromso study.» *BMC Health Serv Res*, 2017: 1:17-22.

114- Beaudart C, McCloskey E, Bruyere O et al. «Sarcopenia in daily practice: assessment and management. » *BMC Geriatr*, 2016: 16:170.

115 - Kim EY, Kim YS, Park I et al. «Prognostic significance of CT-determined sarcopenia in patients with small-cell lung cancer.» *J Thorac Oncol*, 2015: 10:1795–9.

116 - Clark RV, Walker AC, Miller RR et al. «Creatine (methyl-d3) dilution in urine for estimation of total body skeletal muscle mass: accuracy and variability vs. MRI and DXA.» *J Appl Physiol*, 2018: 124:1–9.

117 - Shankaran M, Czerwiec G, Fessler C et al. «Dilution of oral D3-creatine to measure creatine pool size and estimate skeletal muscle mass: development of a correction algorithm.» *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2018: 9:540-46.

118 - Ismail C, Zabal J, Hernandez HJ, et al. «Diagnostic ultrasound estimates of muscle mass and muscle quality discriminate between women with and without sarcopenia.» *Front Physiol.*, 2015: 6:29-302.

119 - Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. «Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. A pathway for the regulation of cell function and communication.» *Biochem Pharmacol.*, 1989: 38:1709-1715.

120 - Nelson DL, Cox MM. *Lehninger, principios de bioquímica*. 4ª edición . Edit. Omega., 2008: 18: 635-668

121 - Archer JD, Vargas CC, Anderson JE. «Persistent and improved functional gain in mdx dystrophic mice after treatment with L-arginine and deflazacort.» *FASEB J*, 2006: 20:738-740.

122 - Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. «Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology.» *Pharmacol Rev.*, 1991: 43:109-142.

123 - Moncada S, Erusalimsky JD. «Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis?» *Nat Rev Mol Cell Biol.*, 2002: 3:214-20.

124 - Moncada, S. «Adventures in vascular biology: a tale of two mediators. » *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2006: 361:735-759.

125 - Vilela TC, Eftting PS, Dos Santos Pedroso G, et al. «Aerobic and strength training induce changes in oxidative stress parameters and elicit modifications of various cellular components in skeletal muscle of aged rats.» *Exp Gerontol*, 2018: 106:21-27.

126 - Navarro A, López-Cepero JM, Sánchez MJ. «Skeletal muscle and aging.» *Frontiers in Bioscience*, 2001: 6:26-44.

127 - McArdle F, Pattwell DM, Vasilak Ai, et al. «Intracellular generation of reactive oxygen species by contracting skeletal muscle cells.» *Free Radic. Biol. Med.*, 2005: 39:651–657.

128 - Chang W J, Iannaccone ST, Lau KS, et al. «Neuronal nitric oxide synthase and dystrophin-deficient muscular dystrophy.» *Proc.Natl.Acad.*, 1996: 93: 9142-9147.

129 - Altun M, Besche HC, Overkleeft HS. «Muscle wasting in aged, sarcopenic rats is associated with enhanced activity of the ubiquitin proteasome pathway.» *J. Biol. Chem.*, 2010: 285:39597–39608.

130 - Shiao T, Fond A, Deng B, et al. «Defects in neuromuscular junction structure in dystrophic muscle are corrected by expression of a NOS transgene in dystrophin-deficient muscles, but not in muscles lacking alpha- and beta1-syntrophins.» *Human Mol. Genet.*, 2004: 13:1873-1884.

131 - Hardy TA, May JM,. «Coordinate regulation of l-arginine uptake and nitric oxide synthase activity in cultured endothelial cells.» *Free Radic. Biol. Med*, 2002: 32:122–131.

132 - Oak SA, Zhou YW, Jarrett HW. «Skeletal muscle signaling pathway through the dystrophin glycoprotein complex and Rac1.» *J Biol Chem*, 2003: 278:39287–39295.

133 - Hall DT, Ma JF, Marco SD, et al. «Inducible nitric oxide synthase (iNOS) in muscle wasting syndrome, sarcopenia, and cachexia.» *Aging*, 2011: 3:702-715.

134 - Di Marco S, Mazroui R, Dallaire P, et al. «NF-kappa B-mediated MyoD decay during muscle wasting requires nitric oxide synthase mRNA stabilization, HuR protein, and nitric oxide release.» *Mol Cell Biol*, 2005: 25:6533-6545.

135 - Salminen A, Huuskonen J, Ojala J, et al. «Activation of innate immunity system during aging: NF-kB signaling is the molecular culprit of inflamm-aging.» *Ageing Res Rev.*, 2008: 7:83-105.

136 - Kandarian SC, Jackman RW. « Intracellular signaling during skeletal muscle atrophy.» *Muscle Nerve*, 2006: 33:155-165.

137 - Ramamoorthy S, Donohue M, Buck M. «Decreased Jun-D and myogenin expression in muscle wasting of human cachexia.» *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2009: 297:392-401.

138 - Nelson DL, Cox MM. *Lheniger principios de bioquímica*. 4ª Edición. edit.Omega, 2008: 12:434-438.

139 - Weissman BA, Jones CL, Liu Q, et al. «Activation and inactivation of neuronal nitric oxide synthase: characterization of Ca²dependent [125I] calmodulin binding.» *Eur J Pharmacol*, 2002.: 435:9–18.

140 - Curis E, Nicolis I, Moinard C, et al. «Almost all about citrulline in mammals.» *Amino Acids*, 2005: 29:177–205.

141 - Yokota A, Kawasaki S, Iwano M, et al. «Citrulline and DRIP-1 Protein (ArgE Homologue) in Drought Tolerance of Wild Watermelon.» *Annals of Botany*, 2002: 89:825–832.

142 - Windmueller HG, Spaeth AE. « Source and fate of circulating citrulline.» *Am J Physiol*, 1981: 241:473 – 480.

143 – Cordova A. «Fisiología dinámica.» *Edit. Elsevier-Masson, Barcelona*, 2003.

144 - Bahri S, Zerrouk N, Aussel C, et al. «Citrulline: from metabolism to therapeutic use.» *Nutrition*, 2013: 29:479-484.

145 - Wu G, Morris S M, Jr. «Arginine metabolism: nitric oxide and beyond.» *Biochem J.*, 1998: 336:1-17.

146 - Levillain O. «Expression and function of arginine-producing and consuming-enzymes in the kidney.» *Amino acids*, 2012: 42:1237-1252.

147 - Allerton TD, Proctor DN, Stephens JM, et al. «l-Citrulline Supplementation: Impact on Cardiometabolic Health.» *Nutrients*, 2018: 10:921-45.

148 - van de Poll M C, Soeters P B, Deutz N E, et al. «Renal metabolism of amino acids: Its role in interorgan amino acid exchange.» *Am J Clin Nutr*, 2004: 79:185–197.

149 - van de Poll MC, Ligthart-Melis GC, Boelens PG, et al. « Intestinal and hepatic metabolism of glutamine and citrulline in humans.» *J Physiol*, 2007: 81:819-827.

150 - Pérez-Guisado J, Jakeman PM. «Citrulline malate enhances athletic anaerobic performance and relieves muscle soreness.» *J Strength Cond Res*, 2010: 24:1215-1222.

151 - Bendahan D, Mattei JP, Ghattas B, et al. «Citrulline/malate promotes aerobic energy production in human exercising muscle.» *Br J Sports Med*, 2002: 36:282-289.

152 - Papadia C, Sherwood R, Kalantzis C, et al. «Plasma citrulline concentration: a reliable marker of small bowel absorptive capacity independent of inflammation.» *Am J Gastroenterol*, 2007: 102:1474-1482.

153 - Moinard C, Nicolis I, Neveux N, et al. «Dose ranging effects of citrulline administration on plasma amino acids and hormonal patterns in

healthy subjects: the citrudose pharmacokinetic study.» *Br J Nutr*, 2008: 99:855-862.

154 - Chappell AJ, Allwood DM, Johns R, et al. «Citrulline malate supplementation does not improve German Volume Training performance or reduce muscle soreness in moderately trained males and females.» *J Int Soc Sports Nutr*, 2018: 1:15-42.

155 – Cordova A. «Fisiología deportiva.» *Edit. Síntesis, Madrid*, 2013.

156 - Da Silva DK, Jacinto JL, de Andrade WB, et al. «Citrulline Malate Does Not Improve Muscle Recovery after Resistance Exercise in Untrained Young Adult Men.» *Nutrients*, 2017: 9:1132-45.

157 - Kiyici F, Eroğlu H, Kishali NF, et al. «The Effect of Citrulline/Malate on Blood Lactate Levels in Intensive Exercise.» *Biochem Genet.*, 2017: 55:387-394.

158 - Huerta Á, Domínguez A, Barahona-Fuentes G. «The effect of supplementation with L-arginine and L-citrulline on physical performance: a systematic review.» *Nutr Hosp*, 2019: 36:1389-1402.

159 - Buckinx F, Marcangeli V, Carvalho LP, et al. «Initial Dietary Protein Intake Influence Muscle Function Adaptations in Older Men and Women Following High-Intensity Interval Training Combined with Citrulline.» *Nutrients*, 2019: 11:1685-104.

160 - Buckinx F, Gouspillou G, Carvalho LP, et al. «Effect of High-Intensity Interval Training Combined with L-Citrulline Supplementation on

Functional Capacities and Muscle Function in Dynapenic-Obese Older Adults.» *J Clin Med.*, 2018: 17:561-69.

161 - Rogers JM, Gills J, Gray M. «Acute effects of Nitrosigine and citrulline malate on vasodilation in young adults.» *J Int Soc Sports Nutr.*, 2020: 1:17-12.

162 - Bouillanne O, Melchior JC, Faure C, et al. « Impact of 3-week citrulline supplementation on postprandial protein metabolism in malnourished older patients: The Ciproage randomized controlled trial.» *Clin Nutr.*, 2019: 38:564-574.

163 - Jordan M, Glenn JM, Gray M, et al. «Acute citrulline malate supplementation improves upper-and lower-body submaximal weightlifting exercise performance in resistance-trained females.» *Eur J Nutr.*, 2017: 56 :775-784.

164 – Sureda A, Córdova A, Ferrer MD, et al. «L-citrulline-malate influence over branched chain amino acid utilization during exercise.» *Eur J Appl Physiol.*, 2010: 110 :341-351.

165 - Martínez-González MA, López-Fontana C, Varo JJ, et al. «Validation of the Spanish version of the physical activity questionnaire used in the Nurses' Health Study and the Health Professionals' Follow-up Study.» *Public Health Nutr.*, 2005: 8:920-927.

166 - Schröder H, Fitó M, Estruch R, et al. «A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women.» *J Nutr*, 2011: 141:1140-1145.

167 - Espinoza I, Osorio P, Torrejón MJ. «Validation of the WHOQOL-BREF quality of life questionnaire among Chilean older people.» *Rev Med Chile*, 2011: 139:579-586.

168 - Prins FM, Said MA, van de Vegte YJ, et al. «Genetically Determined Physical Activity and Its Association with Circulating Blood Cells.» *Genes (Basel)*, 2019: 7:10:908.

169 - Willis EA, Shearer JJ, Matthews CE, et al. «Association of physical activity and sedentary time with blood cell counts: National Health and Nutrition Survey. 2003-2006.» *PLoS One*, 2018: 13:e0204277.

170 - Wax B, Kavazis AN, Weldon K, et al. «Effects of supplemental citrulline malate ingestion during repeated bouts of lower-body exercise in advanced weight lifters.» *J Strength Cond Res.*, 2014: 29:786–792.

171 - Cutrufello PT, Gadowski SJ, Zavorsky GS. «The effect of l-citrulline and watermelon juice supplementation on anaerobic and aerobic exercise performance.» *J Sports Sci.*, 2015: 33:1459–1466.

172 - Gallagher D, Heymsfield SB. «Muscle distribution: variations with body weight, gender, and age.» *Appl Radiat Isot.*, 1998: 49:733–734.

173 - Janssen I, Heymsfield SB, Wang ZM, et al. «Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr.» *J Appl Physiol*, 2000: 89:81–88.

174 - Suzuki I, Sakuraba K, Horiike T, et al. «A combination of oral l-citrulline and l-arginine improved 10-min full-power cycling test performance in male collegiate soccer players: a randomized crossover trial.» *Eur J Appl Physiol.*, 2019: 119:1075–1084.

175 - Soldin OP, Mattison DR. «Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics.» *Clin Pharmacokinet.*, 2009: 48:143–157.

176 - Sureda A, Pons A. «Arginine and citrulline supplementation in sports and exercise: ergogenic nutrients?» *Med Sport Sci.*, 2012: 59:18-28.

177 - Meynial-Denis D. «Glutamine metabolism in advanced age.» *Nutr Rev*, 2016: 74:225–236.

178 - Glenn JM, Gray M, Jensen A, et al. «Acute citrulline-malate supplementation improves maximal strength and anaerobic power in female, masters athletes tennis players.» *Eur J Sport Sci.*, 2016: 16:1095-1103.

179 - Hawkes D, Grant M, McMahon J. «Can grip strength be used as a surrogate marker to monitor recovery from shoulder fatigue?» *J Electromyogr Kinesiol*, 2018: 41:139-146.

180- Ham DJ, Gleeson BG, Chee A, et al. «L-Citrulline Protects Skeletal Muscle Cells from Cachectic Stimuli through an iNOS-Dependent Mechanism.» *PLoS One*, 2015 : 10:141- 172.

181 - Sureda A, Cordova A, Ferrer MD, et al. «Effects of L-citrulline oral supplementation on polymorphonuclear neutrophils oxidative burst and nitric oxide production after exercise.» *Free Radic Res*, 2009: 43:828-835.

182 - Joffin N, Jaubert AM, Durant S, et al.. «Citrulline counteracts overweight- and aging-related effects on adiponectin and leptin gene expression in rat white adipose tissue.» *Biochim. Open*, 2015: 1:1–5.

183 - Barkhidarian B, Seyedhamzeh S, Hashemy SI, et al. «Effects of arginine and citrulline supplementation on inflammatory markers in critically ill patients.» *J. Nutr. Sci. Diet.* , 2016: 2:2-7.

184 - Breuillard C, Bonhomme S, Couderc R, y et al. «In vitro anti-inflammatory effects of citrulline on peritoneal macrophages in Zucker diabetic fatty rats.» *Br. J. Nutr.*, 2015: 113:120–124.

185 - Engeli S, Janke J, Gorzelniak K, et al. « Regulation of the nitric oxide system in human adipose tissue.» *J. Lipid Res.* , 2004: 45:1640–1648.

186 - Nisoli E, Clementi E, Paolucci C, et al. «Mitochondrial biogenesis in mammals: The role of endogenous nitric oxide. » *Science*, 2003: 299:896–899.

187 - Valerio A, D'Antona G, Nisoli E. «Branched-chain amino acids, mitochondrial biogenesis, and healthspan: An evolutionary perspective. » *Aging*, 2011: 3:464–478.

CAPÍTULO VIII: BIBLIOGRAFIA

188 - Devries MC, Samjoo IA, Hamadeh MJ, et al. «Endurance training modulates intramyocellular lipid compartmentalization and morphology in skeletal muscle of lean and obese women.» *J Clin Endocrinol Metab*, 2013; 98:4852-4862.

189 - Cordova A. «Fatiga muscular en el rendimiento deportivo.» *Ed. Sintesis*, Madrid, 1999.

190 – Cordova A. «Valoración clínica del deportista por el laboratorio.» *Edit. Sintesis, Madrid*, 2015.

191 - Cordova A, Alvarez-Mon M. «Inmunidad en el deporte.» *Edit Gymnos*, Madrid, 2001.

192 - Suzuki, K. «Chronic Inflammation as an Immunological Abnormality and Effectiveness of Exercise.» *Biomolecules*, 2019; 9:223.

193 - Takahashi M, Miyashita M, Kawanishi N, et al. «Low-volume exercise training attenuates oxidative stress and neutrophils activation in older adults.» *Eur. J. Appl. Physiol*, 2013; 113:1117–1126.

194 - Feldman HA, Longcope C, Derby CA, et al. «Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from the Massachusetts Male Aging Study.» *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.*, 2002; 8:589–599.

195 - Morley JE, Perry HM. «Androgens and women at the menopause and beyond.» *Journals of Gerontology*, 2003; 58:409–416.

196 - Piazza JR, Dmitrieva NO, Charles ST, et al. «Diurnal cortisol profiles, inflammation, and functional limitations in aging: Findings from the MIDUS study.» *Health Psychol*, 2018: 37:839-849.

197 - Mariano García-Verdugo Delmas. «El entrenamiento de resistencia basado en zonas o áreas funcionales. El modelo Dipper.» *Editorial Paidotribo, Barcelona*, 2018.

198 – Cordova A. «Potenciometros mitos y mentiras.» *Edit. Mic, León*, 2016.