



**UNIVERSIDAD DE LEÓN**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**ESTUDIO DE LA MITOFAGIA EN RESPUESTA A  
UN PROGRAMA DE ENTRENAMIENTO DE  
FUERZA EN PERSONAS MAYORES**

**STUDY OF MITOPHAGY IN RESPONSE TO A STRENGTH  
TRAINING PROGRAM FOR OLDER PEOPLE**

**Oswaldo Costa Moreira**

**León, 2018**





**UNIVERSIDAD DE LEÓN**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**ESTUDIO DE LA MITOFAGIA EN RESPUESTA A  
UN PROGRAMA DE ENTRENAMIENTO DE  
FUERZA EN PERSONAS MAYORES**

Memoria presentada por **Oswaldo  
Costa Moreira** para la obtención del  
título de Doctor en Ciencias de la  
Actividad Física y del Deporte

**DIRECTORES:**

**Dr. José Antonio de Paz Fernández**

**Dra. María José Cuevas González**

**León, 2018**



Parte de los resultados expuestos en la presente memoria han sido publicados en:

I. Publicación

Moreira OC, Alonso-Aubin DA, Oliveira CEP, Candia-Luján R, de Paz JA. **Métodos de evaluación de la composición corporal: una revisión actualizada de descripción, aplicación, ventajas y desventajas.** Arch Med Deporte 2015; 32(6):387-394 (ANEXO I).

II. Publicación

Moreira OC, Oliveira CEP, Candia-Luján R, Romero-Pérez EM, de Paz JA. **Métodos de evaluación de la masa muscular: una revisión sistemática de ensayos controlados aleatorios.** Nutr Hosp. 2015;32:977-985 (ANEXO II).

III. Publicación

Moreira OC, Estébanez B, Martínez-Florez S, de Paz JA, Cuevas MJ, González-Gallego J. **Mitochondrial Function and Mitophagy in the Elderly: Effects of Exercise.** Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:2012798 (ANEXO III).

IV. Publicación

Moreira OC, Oliveira CEP, de Paz JA. **Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) reliability and intraobserver reproducibility for segmental body composition measuring.** Nutr Hosp. 2017 (en prensa) (ANEXO IV).



Parte de los resultados expuestos en la presente memoria han sido enviados para publicación en:

Moreira OC, Oliveira CEP, Estébanez B, González-Gallego J, Cuevas MJ, de Paz JA. ***Effects of short-term strength training on body composition, muscle strength and functional capacity of elderly: a systematic review and meta-analysis.*** Journal of Sports and Health Science. (en revisión).

Estébanez B, Moreira OC, Almar M, de Paz JA, González-Gallego J, Cuevas MJ. ***Effects of a resistance-training program on endoplasmic reticulum unfolded protein response and mitochondrial functions in elderly subjects.*** Journal of Gerontology: Biological Sciences (en revision).

Moreira OC, Oliveira CEP, Maroto-Izquierdo S, Cuevas MJ, Paz JA. ***Effect of short-term resistance training on functional capacity of elderly: a pilot study.*** Journal of Sports Medicine and Physical Fitness (en revision).



Parte de los resultados expuestos en la presente memoria han sido objeto de las siguientes comunicaciones en Congresos Internacionales:

Moreira OC, Oliveira CEP, Estebanez-Gonzalez B, Cuevas MJ, De Paz JA. ***Effect of eight weeks of classic strength training of short duration on body composition and bone health of physically active elderly.*** In: IX International Symposium in Strength Training, 2016, Madrid/España. Annals of IX International Symposium in Strength Training. Madrid: Printa Technology 2016, 113-114.

Moreira OC, Oliveira CEP, De Paz JA. ***Effect of eight weeks of classic strength training of short duration on functional capacity of elderly: a pilot study.*** In: CIDESD 2016: International Congress of exercise and sports performance, 2016, Évora/Portugal. Motricidade. 2017;13(1):171-2.

Moreira OC, Oliveira CEP, De Paz JA. ***Eight weeks of classic strength training are able to revert the deleterious effects of aging on different muscle strength manifestations in physically active elderly.*** In: CIDESD 2016: International Congress of exercise and sports performance, 2016, Évora/Portugal. Motricidade. 2017;13(1):149.

Moreira OC, Oliveira CEP, Estebanez B, González-Gallego J Cuevas MJ, De Paz JA. ***Effect of eight weeks of progressive resistance training on different muscle strength manifestations of physically active elderly.*** In: XIII SIEFLAS: Seminário Internacional de Educação Física, Saúde e Lazer, 2017, Guarda/Portugal.

Estebanez B, Moreira OC, Martinez-Florez S, De Paz JA, Cuevas MJ, Gonzalez-Gallego J. ***Effects of resistance exercise training on mitochondrial function and mitophagy on elderly***. In: XI Congreso de la Federación Española de Biotecnólogos - Congreso Anual de Biotecnología, 2017, León/España. Libro de Resúmenes. XI Congreso de la Federación Española de Biotecnólogos - Congreso Anual de Biotecnología. León: Federación Española de Biotecnólogos, 2017. p. 129.

Estébanez-González B, Cuevas-González MJ, Moreira OC, González-Gallego J, Paz-Fernández JA. ***Effect of resistance training on unfolded protein response in the elderly***. In: V Congreso Internacional Ejercicio Físico y Salud, Universidad de Sonora, Sonora/México. Libro de Resúmenes - V Congreso Internacional Ejercicio Físico y Salud. Sonora: Universidad de Sonora, 2017.

## Financiación

---

Este proyecto ha sido financiado por el Plan Nacional I+D+I (DEP2013-47659-R).

Para la realización de la presente tesis doctoral, Osvaldo Costa Moreira ha sido beneficiario durante cuatro años del Programa de Becas de Doctorado Pleno en el Exterior de la *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) del *Ministério da Educação* (MEC) de Brasil.

Además, esta Tesis Doctoral se enmarca dentro del área de Envejecimiento del Campus de Excelencia Internacional Triangular E3 “Los Horizontes del Hombre”, perteneciente al programa Internacional del Ministerio de Educación. España.





# ÍNDICE DE CONTENIDOS

	<b>Página</b>
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	I
<b>ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS</b>	III
<b>ÍNDICE GENERAL</b>	VII
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	XI
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	XV
<b>RESUMEN</b>	XIX
<b>ABSTRACT</b>	XXIII



*Caminhando e cantando e seguindo a canção*

*Somos todos iguais braços dados ou não*

*Nas escolas, nas ruas, campos, construções*

*Caminhando e cantando e seguindo a canção*

*Vem, vamos embora, que esperar não é saber*

*Quem sabe faz a hora, não espera acontecer*

Geraldo Vandré



A mi padre y mi madre, por su constante apoyo y vital inspiración.

A mi hermana, mi amiga y compañera en la vida.

A mi tío José Luis Moreira (*in memoriam*). Fuiste un gran ejemplo.

¡A Claudia, simplemente por todo!



## AGRADECIMIENTOS

Empiezo mis agradecimientos dando gracias a la *Universidade Federal de Viçosa* (UFV) por brindarme esta oportunidad de formación académica y experiencia personal.

A la *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) del *Ministério da Educação* (MEC) de Brasil, por la beca doctoral concedida, que fue fundamental para la realización de mi formación doctoral.

Al Dr. José Antonio de Paz Fernández, por permitirme ser parte de su grupo de estudiantes en tan reconocido cuerpo académico, como es el Instituto de Biomedicina (IBIOMED) de la Universidad de León. Además, agradecerle por compartir sus valiosos conocimientos y brindar los apoyos logísticos que hicieron posible este proyecto.

A la Dra. María José Cuevas, por aceptar el desafío de enseñarme las técnicas de biología celular necesarias para llevar a cabo los análisis realizados en este trabajo, así como por sus valiosos conocimientos y por su simpatía.

Agradezco especialmente a todas las personas mayores, por su participación desinteresada y voluntaria en el estudio. Ustedes fueron fantásticos y son un ejemplo de vida.

A mis colegas de formación con quienes compartí esta experiencia académica en el seminario 85: Andrea, Borja, Carlos, Diego, Edson, Ena, Fredy Jairo, Juan, Julián, Mario, Mercedes, Néstor, Ramón, Santiago, Saúl, Sergio, Sofia, Víctor y Zoila. Gracias por vuestra amistad y compañerismo.

A los compañeros del IBIOMED y del Departamento de Fisiología, por las horas y conocimientos compartidos: Brisa, Rômulo, Néstor, Carolina, Susana, Lud y Héctor.

A aquellas personas, que independientemente del ámbito académico, fueron un apoyo en el tiempo de estancia en León: Abel, Ana, Azucena, David,

Edson, Juanjo, Juliana, Laura, Marcos, Paula, Paulo, Pietro, Raquel, Rubén y Silvia.

Gracias a la *University of Tampa*/EEUU por brindarme la oportunidad de ampliar mis conocimientos durante el tiempo de estancia en tan prestigiosa institución. En especial agradezco al profesor Dr. Eduardo Oliveira de Souza por compartir sus valiosos conocimientos y por toda la experiencia personal compartida.

Agradezco especialmente a mi familia por su apoyo durante todo este tiempo y que desde la distancia siempre me acompañaron. Mis padres, hermana, sobrino, suegras, cuñados, tías, tíos, primos, gracias por todo, pues sois la base de mi existencia. A João Miguel, mi hijo de corazón, gracias por ser un ángel de luz en mi vida y por darme alegría y esperanza en todos los momentos.

Finalmente, gracias Claudinha por ser esposa, amiga, amante, compañera, cuidadora, psicóloga, madre y la mejor persona para acompañarme en este camino que es el doctorado. ¡Gracias por todo, pues usted fue y es esencial en mi vida! Gracias también Cecília, este pequeño ángel de luz que llegó a nuestras vidas para dar aún más alegría y esperanza. ¡Ustedes dos son maravillosas!

## ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

$\Delta$	Diferencia absoluta entre los valores pre y post
$\mu\text{L}$	Micro litros
1RM	Test de fuerza máxima dinámica
2MST	<i>2 minutes step test</i>
30CST	<i>30s – chair stand test</i>
8FUG	<i>8 foot up-and-go test</i>
ACT	<i>Arm curl test</i>
ATG	Genes relacionados con la autofagia
ATP	Adenosina trifosfato
Bcl2	Proteína 2 del linfoma de células $\beta$
Bcl-2	Familia de proteínas 2 del linfoma de células B
Bcl-Rambo	Proteína 13 semejante a Bcl-2
Beclin1	Proteína codificada por el gen BECN1
Bnip3	Bcl-2/adenovirus E1B que interactúa con la proteína 3
BrDch	Brazo derecho
Brlzq	Brazo izquierdo
$\text{Ca}^{2+}$	Calcio
cm	Centímetros
CM	Calidad muscular
CMA	Autofagia mediada por chaperonas
CMO	Contenido mineral óseo
Cochrane	Registro Cochrane Central de Ensayos Controlados
CT	Cuerpo total
DE	Desviación estándar
Desp	Desplazamiento
DMO	Densidad mineral ósea
DNA	Ácido desoxirribonucleico
mtDNA	DNA mitocondrial
Drp1	Dinamina relacionada con la proteína 1
ECL	Substrato quimioluminescente para inmunotransferencia

EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EEM	Error estándar de la media
EFCD	Entrenamiento de fuerza de corta duración
ES	Tamaño del efecto
F	Fémur
FC	Frecuencia cardíaca
Fis1	Proteína de fisión mitocondrial 1
FMD	Fuerza máxima dinámica
FMI	Fuerza máxima isométrica
FPM	Fuerza de presión manual
FUNDC1	Proteína que contiene el dominio 1 de FUN14
GABARAP	Proteína asociada al receptor del ácido gamma-aminobutírico
GC	Grupo control
GF	Grupo entrenamiento de fuerza
Hsp70	Proteína de choque térmico de 70KDa
IBIOMED	Instituto de Biomedicina
IC95%	Intervalo de confianza de 95%
IMC	Índice de masa corporal
IMM	Membrana mitocondrial interna
kDa	kilo Dalton
Kg	Kilogramos
Kgf	Kilogramos fuerza
LAMP-2A	Proteína de membrana asociada a los lisosomas de tipo 2A
LC3	Cadena ligera 3 de la proteína 1 asociada a microtúbulos
m	Metros
m/s	Metros por segundo
MCT	Masa corporal total
MeSH	<i>Medical Subject Headings</i>
Mfn1	Mitofusina 1
Mfn2	Mitofusina 2
MG	Masa grasa
MGA	Masa grasa androide
MGG	Masa grasa ginecoide

min	Minutos
mL	Mililitros
MM	Masa magra
MMII	Miembros inferiores
MMSS	Miembros superiores
MPTP	Poros de permeabilidad transitoria mitocondrial
mTOR	Proteína diana de la rapamicina en mamíferos
mtROS	ROS procedentes de la cadena respiratoria mitocondrial
mtUPR	Respuesta a las proteínas desplegadas mitocondrial
NIX	Proteína X semejante a BNIP3
NS	Sin alteración significativa
OMM	Membrana mitocondrial externa
OPA1	Proteína de atrofia óptica 1
OXPHOS	Sistema de fosforilación oxidativa disfuncional
p62/SQSTM1	Proteína del secuestrosoma 1
Parkin	Proteína ligase a la ubiquitina E3
PARL	Proteína de tipo romboide asociada a presenilinas
PAR-Q	<i>Physical Activity Readiness Questionnaire</i>
PBMC	Células mononucleares de la sangre periférica
PBS	Tampón fosfato salino
PBS-T	Tampón fosfato salino con detergente Tween
PEDro	<i>Physiotherapy Evidence Database</i>
PGC-1 $\alpha$	Proteína 1 $\alpha$ coactivadora del receptor activado por el proliferador de peroxisomas
PieDch	Pierna derecha
Pielzq	Pierna izquierda
PINK1	Quinasa putativa 1 inducida por PTNE
PM	Potencia media
PP	Potencia pico
PRISMA-P	<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses Protocols</i>
ROI	Región de interés
ROS	Especies reactivas de oxígeno

ROS	Especies reactivas de oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
RT	Temperatura ambiente
SMD	Diferencias estandarizada de la media
TFAM	Factor de transcripción mitocondrial A
VDAC1	Proteína del canal aniónico 1 dependiente del voltaje
Vel	Velocidad
VO <sub>2</sub> máx	Consumo de oxígeno máximo
w	Vatios
$\Delta\Psi_m$	Potencial de membrana mitocondrial

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>2. ANTECEDENTES</b>	5
<b>2.1. Envejecimiento: definición y epidemiología</b>	7
<b>2.2. Teorías y posibles causas del envejecimiento</b>	10
<b>2.3. Consecuencias fisiológicas del envejecimiento</b>	13
<b>2.4. Efectos del envejecimiento en la salud ósea, la composición corporal, la fuerza y la capacidad funcional</b>	17
2.4.1. Envejecimiento y salud ósea	18
2.4.2. Envejecimiento y composición corporal	21
2.4.3. Envejecimiento, fuerza y capacidad funcional	29
<b>2.5. Efectos del entrenamiento de fuerza sobre la fuerza muscular, la capacidad funcional, la composición corporal y la salud ósea de personas mayores</b>	35
<b>2.6. Autofagia: definición, importancia, tipos, mecanismos y relación con el envejecimiento</b>	50
2.6.1. Definición e importancia de la autofagia	50
2.6.2. Tipos de autofagia y sus mecanismos de acción	52
2.6.3. Mitocondria y envejecimiento: funciones e importancia	57
2.6.4. Vías de la mitofagia: principales mecanismos	62
2.6.5. Principales cambios de la mitofagia en el envejecimiento	65
2.6.6. Mitofagia y ejercicio: influencia y posibles consecuencias	70
<b>3. OBJETIVOS</b>	77
<b>3.1. Objetivo General</b>	79
<b>3.2. Objetivos Específicos</b>	79
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	81

---

<b>4.1.</b>	<b>Diseño experimental</b>	83
<b>4.2.</b>	<b>Participantes</b>	84
<b>4.3.</b>	<b>Variables e instrumentos de recolección</b>	86
4.3.1.	Evaluación de los indicadores antropométricos	86
4.3.2.	Evaluación de la composición corporal	87
4.3.3.	Evaluación de las manifestaciones de la fuerza	88
4.3.3.1.	Evaluación de la FMI de los MMII	88
4.3.3.2.	Evaluación de la fuerza máxima dinámica (FMD) de los MMII	90
4.3.3.3.	Evaluación de la potencia de los MMII	91
4.3.3.4.	Evaluación de la FMI en los MMSS	92
4.3.3.5.	Evaluación de la FMD de los MMSS	94
4.3.3.6.	Evaluación de la fuerza de prensión manual (FPM)	96
4.3.4.	Evaluación de la capacidad funcional	97
4.3.4.1.	Arm curl test (ACT)	97
4.3.4.2.	30s – chair stand test (30CST)	98
4.3.4.3.	2 minutes step test (2MST)	99
4.3.4.4.	8 foot up-and-go test (8FUG)	100
4.3.5.	Obtención de las muestras sanguíneas	101
4.3.6.	Cuantificación de proteínas totales	102
4.3.7.	Cuantificación de proteínas por <i>Western Blot</i>	103
<b>4.4.</b>	<b>Procedimientos y protocolo de entrenamiento de fuerza</b>	105
<b>4.5.</b>	<b>Análisis estadístico</b>	113
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b>	115
<b>5.1.</b>	<b>Descripción y características generales de la muestra</b>	117
<b>5.2.</b>	<b>Fuerza máxima</b>	117
<b>5.3.</b>	<b>Potencia muscular</b>	119
<b>5.4.</b>	<b>Capacidad funcional</b>	121
<b>5.5.</b>	<b>Composición corporal y salud ósea</b>	122
<b>5.6.</b>	<b>Proteínas de señalización de la mitofagia</b>	124
5.6.1.	Efecto del envejecimiento en las proteínas de señalización de la mitofagia	124

5.6.2.	Efecto del sexo en las proteínas de señalización de la mitofagia	126
5.6.3.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de señalización de la mitofagia	127
5.6.3.1.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de macroautofagia	127
5.6.3.2.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de dinámica mitocondrial	129
5.6.3.3.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin	131
5.6.3.4.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3	133
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>135</b>
6.1.	<b>Fuerza máxima</b>	<b>137</b>
6.2.	<b>Potencia muscular</b>	<b>140</b>
6.3.	<b>Capacidad funcional</b>	<b>142</b>
6.4.	<b>Composición corporal y salud ósea</b>	<b>146</b>
6.5.	<b>Proteínas de señalización de la mitofagia</b>	<b>151</b>
6.5.1.	Efecto del envejecimiento en las proteínas de señalización de la mitofagia	151
6.5.2.	Efecto del sexo en las proteínas de señalización de la mitofagia	154
6.5.3.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de señalización de la mitofagia	156
6.5.3.1.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de macroautofagia	156
6.5.3.2.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de	157

	dinámica mitocondrial	
6.5.3.3.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin	159
6.5.3.4.	Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3	160
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>163</b>
<b>8.</b>	<b>LIMITACIONES</b>	<b>167</b>
<b>9.</b>	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS</b>	<b>171</b>
<b>10.</b>	<b>APLICACIONES PRÁCTICAS</b>	<b>175</b>
<b>11.</b>	<b>ENGLISH SUMMARY</b>	<b>179</b>
<b>12.</b>	<b>REFERENCIAS</b>	<b>229</b>
<b>13.</b>	<b>ANEXOS</b>	<b>263</b>
13.1.	Anexo I	265
13.2.	Anexo II	275
13.3.	Anexo III	287
13.4.	Anexo IV	303

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Proporción de personas con 60 o más años, por países, en 2015 y proyección de esta proporción para el año de 2050	8
Figura 2. Esquema ilustrativo de la visión fisiológica integrada de los cambios funcionales y estructurales observados durante el envejecimiento y su posible relación con los a fallos en nivel celular	11
Figura 3. Diagrama de flujo que ilustra las diferentes fases de la búsqueda y selección de los estudios incluidos en la revisión (PRISMA).	37
Figura 4. Efecto del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre la fuerza máxima dinámica, la fuerza máxima isométrica y la potencia muscular en los miembros inferiores de personas mayores de 65 años.	41
Figura 5. Efecto del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre las pruebas de capacidad funcional <i>8 foot up-and-go test</i> y sentar y levantar en personas mayores de 65 años.	42
Figura 6. Efecto del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre las variables relacionadas con la composición corporal, masa magra y masa grasa, en personas mayores de 65 años.	43
Figura 7. Esquema ilustrativo de los tres tipos primarios de autofagia	52
Figura 8. Esquema ilustrativo de la formación del autofagolisosoma	54
Figura 9. Biogénesis y dinámica mitocondrial y los procesos mitofágicos	60
Figura 10. Esquema ilustrativo del modelo experimental utilizado en el presente trabajo de investigación	83
Figura 11. Ilustración de la colocación de la galga y de la posición del evaluado en la prueba de FMI de los MMII	88
Figura 12. Ilustración de las posiciones inicial y final en la prueba de	89

---

	fuerza dinámica máxima de los MMII	
Figura 13.	Colocación del <i>encoder</i> en la máquina de extensión de rodillas para tomar la medida de la potencia	91
Figura 14.	Ilustración de la colocación de la galga y de la posición del evaluado en la prueba de FMI de los MMSS	92
Figura 15.	Ilustración de las posiciones inicial y final en la prueba de fuerza dinámica máxima de los MMII	94
Figura 16.	Ilustración de la posición del evaluado en la prueba de fuerza de prensión manual	95
Figura 17.	Ilustración de las posiciones inicial y final en el <i>arm curl test</i>	97
Figura 18.	Ilustración de las posiciones inicial y final en el 30s – <i>chair stand test</i> .	98
Figura 19.	Ilustración de las posiciones inicial y final en el 8 <i>foot up-and-go test</i>	99
Figura 20.	Esquema ilustrativo del proceso de extracción de células mononucleares de la sangre periférica (PBMC)	101
Figura 21.	Representación gráfica de la progresión de carga de entrenamiento en función de las 8 semanas de duración del programa de entrenamiento de fuerza	105
Figura 22.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de contractor de pecho	106
Figura 23.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de tracción en la polea alta	107
Figura 24.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de <i>press</i> de piernas	108
Figura 25.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de elevación lateral con mancuernas	108
Figura 26.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de <i>curl</i> de bíceps en el banco	109
Figura 27.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de extensión de tobillos	110
Figura 28.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de	111

	<i>press</i> de banca en la máquina	
Figura 29.	Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de extensión de rodillas en la máquina	111
Figura 30.	Western blots representativos de la cuantificación densitométrica de la comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre varones jóvenes y mayores.	125
Figura 31.	Western blots representativos de la cuantificación densitométrica de la comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre mujeres y hombres mayores.	126
Figura 32.	Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de macroautofagia p62 (A), LC3I (B), LC3II (C) y LC3II/I (D) en PBMC de personas mayores	128
Figura 33.	Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de dinámica mitocondrial PGC1 $\alpha$ (A), Mfn1 (B), OPA1 (C) y DRP1 (D) en PBMC de personas mayores	130
Figura 34.	Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin PINK1 (A), Parkin (B) y VDAC1 (C) en PBMC de personas mayores	132
Figura 35.	Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3 Bnip3 (A) y NIX (B) en PBMC de personas mayores	133



## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1. Síntesis de algunos cambios morfológicos y funcionales causados por el envejecimiento en los sistemas cardiovascular, respiratorio, sensorial y locomotor	15
Tabla 2. Lista detallada de los artículos encontrados y los términos de búsqueda aplicados en las bases de datos seleccionadas	35
Tabla 3. Características de los ensayos controlados aleatorios y ensayos clínicos que examinan los efectos del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre las distintas manifestaciones de la fuerza de los miembros inferiores, capacidad funcional y composición corporal de personas mayores de 65 años	39
Tabla 4. Efectos del envejecimiento sobre las proteínas mitocondriales	65
Tabla 5. Efectos de la práctica de ejercicio físico sobre las proteínas mitocondriales durante el envejecimiento	69
Tabla 6. Anticuerpos primarios específicos utilizados en la técnica de Western Blot para detectar y cuantificar las proteínas	103
Tabla 7. Representación de las cargas de entrenamiento (volumen x intensidad) durante las ocho semanas de duración del programa de entrenamiento de fuerza	105
Tabla 8. Características generales de la muestra seccionada por sexo, entre los dos grupos	114
Tabla 9. Comparación intragrupo de las variables de FMI y FMD entre los momentos pre y post entrenamiento	115
Tabla 10. Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables de FMI y FMD entre los dos grupos	115
Tabla 11. Comparación intragrupo de las variables relacionadas con	117

---

	la potencia muscular entre los momentos pre y post entrenamiento	
Tabla 12.	Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables relacionadas con la potencia muscular entre los dos grupos	118
Tabla 13.	Comparación intragrupo de las variables relacionadas con la capacidad funcional entre los momentos pre y post entrenamiento	119
Tabla 14.	Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables relacionadas con la capacidad funcional entre los dos grupos	119
Tabla 15.	Comparación intragrupo de las variables relacionadas con la composición corporal y la salud ósea entre los momentos pre y post entrenamiento	120
Tabla 16.	Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables relacionadas con la composición corporal y la salud ósea entre los dos grupos	121
Tabla 17.	Comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre varones jóvenes y mayores	125
Tabla 18.	Comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre mujeres y hombres mayores	126
Tabla 19.	Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre las proteínas de macroautofagia en PBMC de personas mayores sometidas a un programa de entrenamiento de fuerza	129
Tabla 20.	Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre la proteína de dinámica mitocondrial en PBMC de personas mayores sometidas a	131

---

	un programa de entrenamiento de fuerza	
Tabla 21.	Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin en PBMC de personas mayores sometidas a un programa de entrenamiento de fuerza	131
Tabla 22.	Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3 en PBMC de personas mayores sometidas a un programa de entrenamiento de fuerza	134



# ***Resumen***

---



## RESUMEN

**Introducción:** El envejecimiento provoca cambios fisiológicos, morfológicos y funcionales en el organismo que resulta en disminución de la capacidad física y pérdidas en las funciones fisiológicas. El entrenamiento de fuerza (EF), a su vez, es una estrategia ampliamente empleada para intentar frenar los efectos degenerativos del envejecimiento, especialmente, sobre la morfología y la capacidad funcional. Sin embargo, la literatura científica no deja claro si un programa de EF es capaz de promover cambios en la capacidad mitofágica de las personas mayores, lo que se convirtió en la principal pregunta de investigación del presente trabajo.

**Objetivo:** Analizar los efectos de un programa de EF sobre las diferentes manifestaciones de la fuerza muscular, los indicadores de aptitud funcional, la composición corporal y las proteínas de señalización de la mitofagia en personas mayores.

**Metodología:** 48 voluntarios con edad entre 70 y 77 años fueron divididos en dos grupos, control (GC: sin EF) y fuerza (GF: con EF). Fueron evaluados por medio de pruebas de fuerza máxima (dinámica, isométrica y potencia), capacidad funcional, composición corporal y extracción de sangre para análisis de las proteínas de mitofagia, antes y después de la realización de un programa de EF. El entrenamiento fue compuesto por 8 ejercicios, para los principales grupos musculares, ejecutados con intensidad de 5-8 en la escala OMNI-RES, en 3 series de 8-12 repeticiones. Para la comparación intragrupo fue utilizada la prueba de Wilcoxon y para la comparación intergrupos fue utilizada la prueba de Mann-Whitney. La prueba D de Cohen fue utilizada para verificar el tamaño del efecto.

**Resultados:** Los principales resultados encontrados fueron que los participantes del GF mejoraron la fuerza de los miembros superiores e inferiores, la potencia de los miembros inferiores y la capacidad funcional tras las 8 semanas de entrenamiento. Además, fueron observadas mejoras significativas en las proteínas PGC-1 $\alpha$ , BNIP3 y NIX en el GF, en comparación con el GC.

**Conclusiones:** El programa de EF realizado por las personas mayores de 70 años produjo incrementos de la fuerza/potencia muscular y de la capacidad funcional, además de producir cambios positivos en las proteínas de macroautofagia, biogénesis mitocondrial y mitofagia, especialmente, en aquellas relacionadas con la vía NIX/Bnip3 de la mitofagia.

**Palabras clave:** Envejecimiento, entrenamiento de fuerza, fuerza muscular, potencia muscular, capacidad funcional, composición corporal, autofagia, mitofagia.

# ***Abstract***

---



## ABSTRACT

**Introduction:** Aging causes physiological, morphological, and functional changes in the body that result in the decreased physical capacity and losses in physiological functions. Strength training (ST), in turn, is a strategy widely used to try to curb the deleterious effects of aging, especially on morphology and functional capacity; however, the body of evidence does not make it clear whether a ST program is able to promote changes in the mitophagic capacity of elderly people, which became the main research question of this dissertation.

**Objective:** To analyze the effects of an ST program on the different muscle strength manifestations, functional fitness indicators, body composition, and mitophagy signaling proteins in the elderly people.

**Methods:** 48 volunteers aged between 70 and 77 years, were divided into two groups, control (CG: without ST) and strength (STG: with ST). They were evaluated by means of maximal strength tests (dynamic, isometric, and power), functional capacity body composition, and blood extraction for analysis of mitophagy proteins, before and after the completion of an ST program. The training was composed by 8 exercises, for the main muscle groups, performed with 3 sets of 8–12 repetitions, and intensity of 5–8 on the OMNI-RES scale. Intragroup comparison was done using the Wilcoxon test and intergroup comparison, using the Mann–Whitney test. Cohen’s D test was used to verify the effect size.

**Results:** As main results revealed, the participants of the STG improved the upper and lower limbs strength, the lower limbs power and the functional capacity after the 8 weeks of training. In addition, significant improvements were observed in PGC-1 $\alpha$ , BNIP3, and NIX proteins in the STG, in comparison with the CG.

**Conclusions:** The ST program carried out by elderly people produced increases in the muscle strength, muscle power, and functional capacity in addition to producing positive changes in the macroautophagy, mitochondrial

biogenesis and mitophagy proteins, especially in those related to NIX/Bnip3 mitophagy pathway.

**Key words:** Aging, strength training, muscle strength, muscle power, functional capacity, body composition, autophagy mitophagy.

# ***1. Introducción***

---



## 1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años es posible observar un envejecimiento de la población mundial, como consecuencia de una disminución de las tasas de natalidad y de mortalidad. Este envejecimiento provoca cambios fisiológicos en las personas mayores que pueden impactar directamente en su funcionalidad y su salud. Algunos de estos cambios pueden estar relacionados con la disminución de la fuerza muscular de los miembros inferiores, disminución de la masa muscular, disminución del contenido mineral óseo y densidad mineral ósea e incremento de la masa grasa corporal.

Además de estos cambios morfofuncionales, el organismo de las personas mayores también sufre cambios fisiológicos como una disminución de la capacidad y funcionalidad del sistema inmune. El deterioro del sistema inmune puede influenciar negativamente en la capacidad del organismo en remover/eliminar orgánulos o estructuras dañadas/ disfuncionales que podrían perturbar el correcto funcionamiento de las funciones fisiológicas corporales y asociarse al desarrollo de algunos síndromes y/o enfermedades.

Una de estas disfunciones relacionadas con el envejecimiento es la disminución de la funcionalidad de las mitocondrias. Esta disfuncionalidad mitocondrial es entre otras cosas, responsable por un incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno y consecuentemente, aumento del estrés oxidativo.

Sin embargo, la práctica regular de ejercicios físicos está postulada como una estrategia de prevención de agravios a la salud y promoción del envejecimiento saludable. Entre los diferentes tipos de ejercicios recomendables para la población mayor, el entrenamiento de fuerza se destaca por sus efectos positivos en la capacidad funcional, en la composición corporal y en la salud ósea de estas personas.

Sin embargo, los programas de entrenamiento de fuerza pueden ser compuestos de una amplia gama de variables que, pueden resultar en respuestas distintas a estos programas de entrenamiento, hecho que deja

algunas lagunas de conocimiento relacionadas con esta temática. Además, específicamente sobre el efecto de los programas de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de señalización de la mitofagia, la literatura científica dispone de muy poca información, lo que también configura una laguna de conocimiento que debe ser respondida por investigaciones científicas.

Por todo lo anteriormente expuesto, algunas cuestiones nos planteamos, como:

¿Cuál es el efecto de un programa de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas de corta duración, basado en las recomendaciones de ejercicio para personas mayores sobre la capacidad funcional de estas personas?

¿Cómo este programa puede impactar las distintas manifestaciones de la fuerza muscular?

¿Este programa es capaz de producir cambios en la composición corporal y en la salud ósea?

¿El proceso de envejecimiento afecta a las proteínas de señalización de la mitofagia?

¿Es el sexo un factor que tiene influencia sobre estas proteínas en personas mayores?

Y ¿cuál es el efecto de cargas progresivas de corta duración, basado en las recomendaciones de ejercicio para personas mayores sobre estas proteínas?

Como un intento de dar respuesta a estas preguntas se decidió llevar a cabo la investigación que se encuentra detallada a continuación, en los apartados de esta memoria.

## ***2. Antecedentes***

---



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Envejecimiento: definición y epidemiología

Aunque el término envejecimiento permita diferentes definiciones de acuerdo con el área de estudio, desde la perspectiva biomédica, el término envejecimiento hace referencia a los cambios que sufren las moléculas, células y poblaciones o especies con el paso del tiempo, siendo este un proceso que se caracteriza por la acumulación de fallos a nivel molecular y celular que se manifiestan en el declive funcional a nivel de tejidos y órganos (Zhang et al., 2016; Zhang, 2015).

A pesar de la complejidad de los cambios que constituyen e influyen en el envejecimiento, con el tiempo estos van a reducir gradualmente las reservas fisiológicas, aumentar el riesgo de enfermedades y disminuir la capacidad del individuo, pudiendo llevarlo a la muerte (WHO, 2015).

Estos cambios no son uniformes, ni lineales, y sólo guardan una pequeña asociación con la edad de una persona (Steves, Spector, Jackson, 2012), ya que dos personas de 70 años pueden gozar de capacidades física y mentales completamente distintas. Este hecho se debe en parte, a que muchos de los mecanismos del envejecimiento son aleatorios y están influenciados por el entorno y el comportamiento de la persona (WHO, 2015).

Por eso, actualmente los sistemas de salud están centrando sus esfuerzos en promover un envejecimiento saludable, definido por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2015) como el proceso de fomentar y mantener la capacidad funcional que permite el bienestar en la vejez. A su vez, la capacidad funcional es definida como los atributos relacionados con la salud que permiten a una persona ser y hacer lo que es importante para ella, estando relacionada con la capacidad intrínseca (combinación de todas las capacidades físicas y mentales de una persona) y con el entorno (comprende todos los factores del mundo exterior que forman el contexto de vida de una persona)

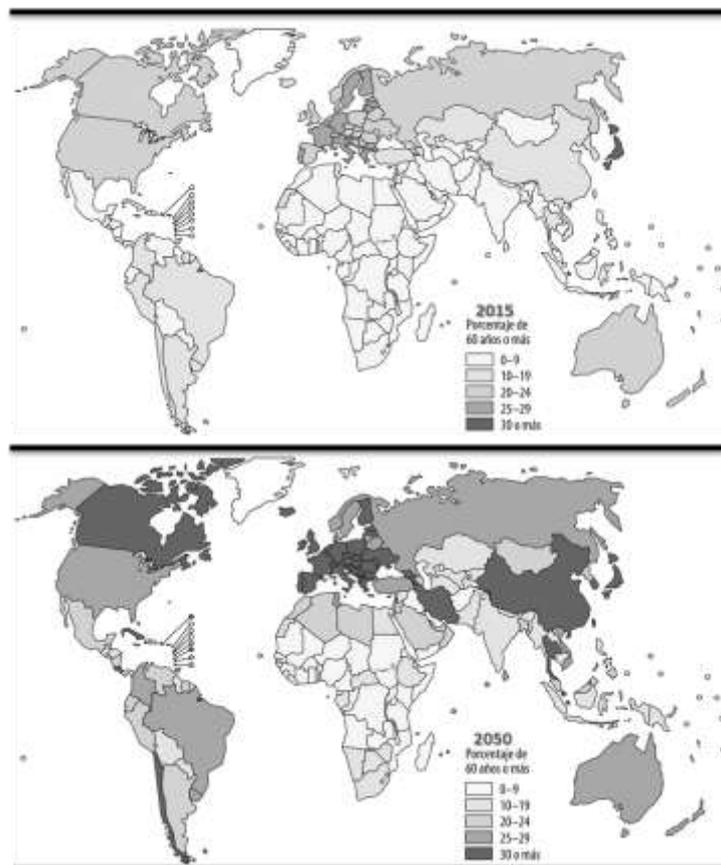
(Rodríguez-Mañas, 2016). Esta idea del envejecimiento saludable refleja permanentemente la interacción entre la persona y el entorno donde vive.

En los últimos años el envejecimiento se ha convertido en objeto de estudio de numerosos grupos de investigación, debido a que tanto la proporción, como el número absoluto de personas mayores de 60 años están creciendo en todo el mundo. Este envejecimiento de la población se debe, básicamente a dos factores: el aumento de la esperanza de vida y la disminución de la tasa de fecundidad (Sharrow, Anderson, 2016; Klenk et al., 2016). La Organización Mundial de la Salud estima que en 2050 todos los países de Europa occidental, Estados Unidos, Chile, Argentina, Rusia, China y algunos países del Oriente Medio tendrán el 30%, o incluso más, de su población compuesta por personas mayores de 60 años (WHO, 2015), como puede ser visto en la figura 1.

Actualmente, según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE, 2017), España cuenta con 46.557.008 habitantes, de los cuales un 18,59% (8.657.744 habitantes) está compuesto por personas con 65 años o más. Sin embargo, proyecciones demográficas indican que, en 2029, la población española mayor de 65 años pasará a ser de un 24,9% y en 2064 corresponderá a un 38,7% de la población (INE, 2014). Adicionalmente, desde los años 1910, en España, el aumento de la duración de la vida ha sido generalizado en todo el tramo para varones y mujeres, con la esperanza de vida creciendo 42,6 años entre la mujeres y 38,8 años entre los varones (García-González, 2014). En los últimos 30 años, la esperanza de vida ha crecido 6,03 años entre las mujeres y 6,17 años entre los varones, siendo actualmente de 84,5 años y 78,5 años, respectivamente para mujeres y varones (García-González, 2013).

El envejecimiento de la población, como se observa en España, puede exigir del sistema de sanidad una reformulación de las políticas de asistencia y la salud, ya que, el estado de salud de estas personas puede impactar positiva o negativamente en la sociedad. Si los años adicionales se viven con buena salud, el envejecimiento de la población traerá consigo un aumento de los recursos humanos que puede contribuir a la sociedad. En cambio, si las

personas viven más tiempo, pero presentan limitaciones en su estado de salud, la demanda de asistencia sanitaria y social será considerablemente superior y las contribuciones sociales de las personas mayores serán más restringidas (WHO, 2015). Así, es importante entender cómo ocurre el proceso de envejecimiento, cuáles son sus consecuencias y cómo se puede intervenir en este proceso para producir un envejecimiento saludable, potenciando la autonomía y la capacidad funcional de las personas mayores.



**Figura 1. Proporción de personas con 60 o más años, por países, en 2015 y proyección de esta proporción para el año de 2050.** Adaptado de WHO (2015).

## 2.2. Teorías y posibles causas del envejecimiento

El entendimiento del proceso de envejecimiento está relacionado con la comprensión de algunas teorías que intentan explicar los factores causales de ese proceso. En 1990, Medvedev (1990), hizo una investigación en la que encontró más de 300 teorías del envejecimiento, lo que haría casi imposible tener una visión completa sobre ese proceso.

Sin embargo, recientemente se está aceptando que para entender el proceso del envejecimiento se debe realizar un análisis sistemático e integrador que abarque los genes, el funcionamiento de los sistemas de mantenimiento y reparación genéticos, el medio y el azar (da Costa et al., 2016). Así, la mayoría de las teorías, si no todas, podría clasificarse en dos categorías: las teorías estocásticas o de errores y las teorías deterministas o de hipótesis programadas (da Costa et al., 2016; Lipsky y King, 2015).

Las teorías deterministas o de hipótesis programadas proponen que el envejecimiento está determinado genéticamente y los organismos tienen un reloj interno que programa la longevidad. Las teorías estocásticas, o de errores, proponen que el error casual y la acumulación de daño en el tiempo causan el envejecimiento (Lipsky y King, 2015).

Las teorías deterministas sugieren que hay un deterioro deliberado con la edad porque una vida limitada da como resultado beneficios evolutivos (Goldsmith, 2014). En este sentido, algunos autores han sugerido que el envejecimiento puede constituir un plan de control (Longo et al., 2005), eliminando a los individuos que superaran la edad reproductiva y que compiten por los recursos, evitando la superpoblación y promoviendo la adaptación a través de una sucesión de generaciones (Kirkwood y Melov, 2011). Además, este plan podría ser el resultado de "genes de envejecimiento", pero, si este fuera el caso, seguramente tales mecanismos serían susceptibles de inactivación y a pesar de que muchas mutaciones genéticas han sido descritas como mutaciones que prolongan la vida (Barbieri et al., 2003, Meléndez et al.,

2003) no se ha reportado ninguno que elimine el proceso de envejecimiento (Kirkwood, 2011).

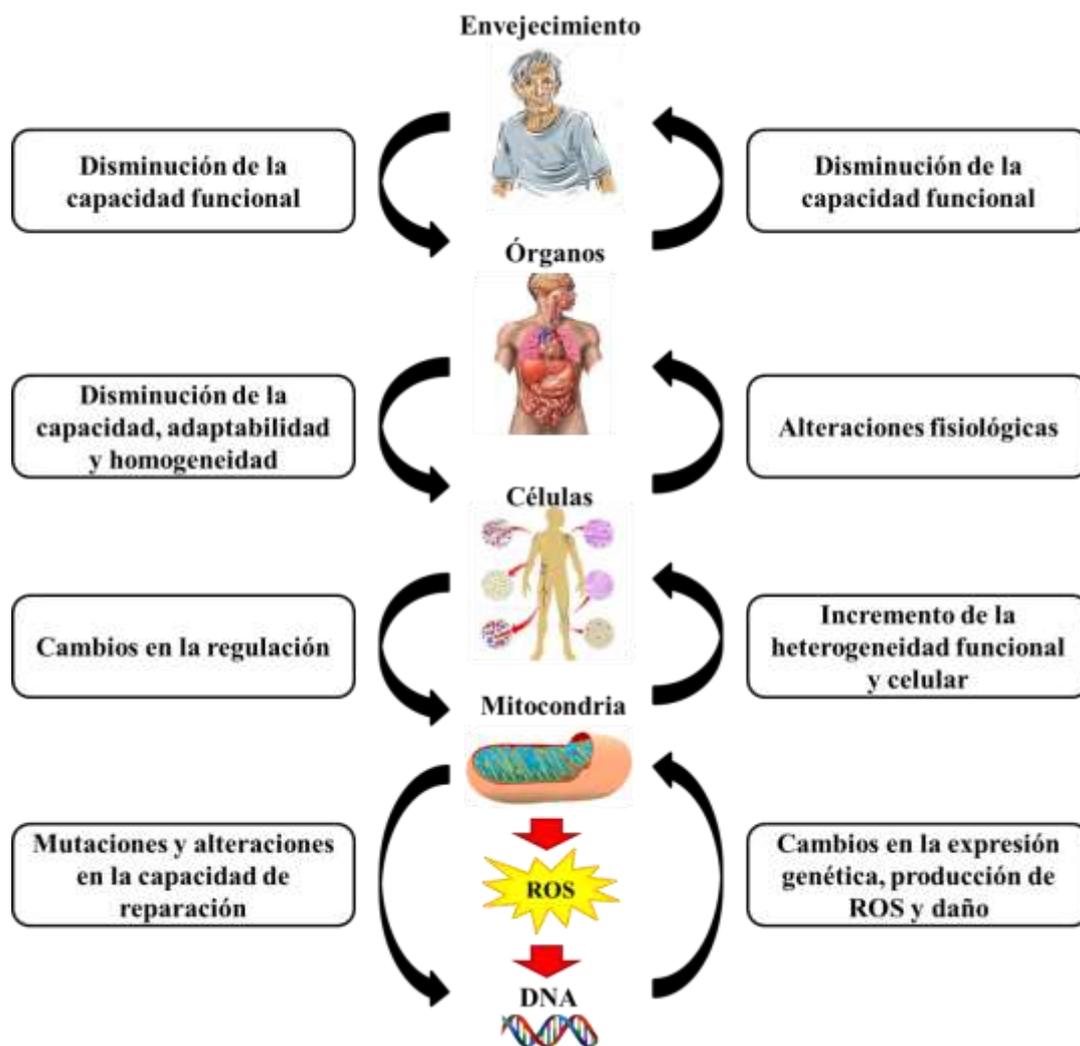
Según las teorías estocásticas el envejecimiento se produce debido a la ausencia de selección natural en la etapa post-reproductiva de la vida, siendo, por lo tanto, un evento no programado (da Costa et al., 2016). Aunque estas teorías del envejecimiento son atractivas, la acumulación del daño/error es un proceso impulsado por la entropía espontánea y como tal, su cinética puede modificarse genéticamente y ambientalmente, (Aledo, Blanco, 2015).

Entre las teorías de los errores, una idea predominante es la del daño oxidativo (Harman, 1981). Las especies reactivas de oxígeno (ROS) se generan durante el metabolismo y se considera que conducen al daño acumulativo en el DNA, en las proteínas y en los lípidos (Piedrafita et al., 2015, Rinnerthaler et al., 2015, Thanan et al., 2014), dónde se destaca las mitocondrias como una de las fuentes principales de ROS en células vivas (Di Meo et al., 2016).

Debido al hecho de que las mitocondrias son el principal productor de ROS en células de mamíferos, el DNA mitocondrial (mtDNA) es, por tanto, particularmente susceptible al daño oxidativo (Hu et al., 2016). Lo cual, después de la replicación, puede resultar en mutaciones que conducen componentes defectuosos a la cadena de transporte de electrones. La posterior incorporación de estos en la cadena de transporte de electrones provoca un mayor aumento de las especies ROS, lo que conduce a un "círculo vicioso" de la producción de ROS y mutaciones mtDNA que, con el tiempo va a provocar daños celulares incompatibles con la vida (Shokolenko et al., 2014). El mantenimiento de la función mitocondrial es, por lo tanto, esencial para preservar la homeostasis celular, por otro lado, su deterioro ha sido descrito como un factor responsable por desencadenar numerosas patologías humanas y el envejecimiento (Gonzalez-Freire et al., 2015; Palikaras y Tavernarakis, 2014).

En este sentido, las dos categorías donde pueden estar insertadas casi todas, si no todas las teorías del envejecimiento tienen en común el hecho de que relacionan el envejecimiento con fallos a nivel celular, en el cual la

mitocondria parece ejercer un papel fundamental. Así, el entendimiento de las teorías y posibles causas del envejecimiento pueden ayudar a analizar mejor las alteraciones morfofisiológicas que ocurren durante el proceso de envejecimiento. La figura 2, presenta un esquema ilustrativo de la visión fisiológica integrada de los cambios funcionales y estructurales observados durante el envejecimiento y su posible relación con los fallos en el nivel celular.



**Figura 2. Esquema ilustrativo de la visión fisiológica integrada de los cambios funcionales y estructurales observados durante el envejecimiento y su posible relación con los fallos a nivel celular. Adaptado de da Costa et al. (2016).**

### **2.3. Consecuencias fisiológicas del envejecimiento**

Las alteraciones morfofisiológicas del envejecimiento son sutiles y no generan incapacidad en su fase inicial, sin embargo, a largo plazo, pueden provocar limitaciones crecientes en la capacidad de ejecutar las actividades de la vida diaria (Esquenazi et al., 2014).

Esta disminución de la capacidad de ejecutar las actividades de la vida diaria se produce por un desgaste gradual que el organismo sufre a medida que va envejeciendo, lo que afecta, especialmente, los sistemas cardiovascular, respiratorio, sensorial y locomotor (WHO, 2015).

En el sistema cardiovascular, las alteraciones morfofisiológicas del envejecimiento son percibidas a nivel arterial y cardíaco. En las arterias es posible notar un incremento de la rigidez, que resulta de las modificaciones estructurales de la pared arterial, especialmente en las arterias de conducción, llevando a un posible desarrollo de hipertensión arterial (Salech et al., 2012). Además, el envejecimiento puede promover la disfunción de células endoteliales, el incremento de la vasoconstricción dependiente del endotelio, la disminución en la biodisponibilidad del óxido nítrico y la angiogénesis dependiente del endotelio y el aumento de la rigidez vascular mediada por canales endoteliales de sodio (Pemberthy-López et al., 2016). Otra alteración en las arterias que ocurren con el envejecimiento es la hipertrofia de las arterias de resistencia, que se caracteriza por engrosamiento de la pared y reducción del lumen arterial, predisponiendo al individuo mayor a un incremento en la tensión arterial (Salech et al., 2012).

A nivel cardíaco, el envejecimiento parece afectar el corazón provocando una disminución de la distensibilidad y de la reserva funcional cardíaca. Además, se observa un incremento de la rigidez y del grosor de la pared ventricular y disminución en el número total de cardiomiocitos, resultando una disminución de la función sistólica y de la capacidad contráctil (Pemberthy-López et al., 2016; Salech et al., 2012).

Según Jaeger (2011), en el sistema respiratorio, es posible observar una serie de alteraciones fisiológicas causadas por el proceso de envejecimiento, de las cuales se puede citar la disminución de la movilidad de la caja torácica y disminución de la fuerza de contracción del diafragma y de los músculos intercostales, resultando en disminución de la capacidad vital. También es posible observar atrofia de las mucosas, aumento del espacio muerto respiratorio y pérdida de elasticidad de los alvéolos. Todo eso va a influir en el sistema respiratorio de las personas mayores, provocando una disminución de las reservas respiratorias, con impacto directo sobre la capacidad aeróbica que, a su vez es utilizado comúnmente como un indicador de la capacidad funcional en personas mayores, además de ser un predictor de mortalidad en estas personas (Harber et al., 2012).

En el sistema sensorial, las alteraciones morfofisiológicas del envejecimiento están relacionadas con disminuciones de la capacidad visual, auditiva, gustativa y olfativa, que pueden tener impacto significativo en la capacidad funcional y la independencia para la realización de las actividades de la vida diaria de la persona mayor (King y Lipsky 2015).

Los principales cambios en la capacidad visual están relacionados con la reducción de la producción de lágrimas, disminución de la agudeza visual y sensibilidad a la luz, disminución de la capacidad de enfocar objetos cercanos (presbicia) y del campo visual periférico, reducción de la sensibilidad al contraste, de la discriminación de color, de la adaptación a la oscuridad y de la percepción de profundidad (Esquenazi et al., 2014). Además, la lente se vuelve más opaca, lo que repercute en la disminución de la capacidad visual (Jaeger, 2011).

En la capacidad auditiva, los principales cambios están relacionados con cambios neuronales que incluyen la pérdida de audición en las frecuencias más altas que afectan tanto a la discriminación del habla como a las habilidades de localización del sonido, particularmente en entornos con mayor ruido de fondo (King y Lipsky 2015). Adicionalmente, la reducción en la densidad y en el número de células receptoras de algunas estructuras del sistema, tiene consecuencias directas en la degeneración del reflejo vestibulo-ocular,

ocasionando la clásica manifestación de desequilibrio corporal, con posibles alteraciones en la marcha (Esquenazi et al., 2014). Este cuadro lleva a un importante problema muy frecuente en la población geriátrica que surge como consecuencia del desequilibrio, las caídas (Esquenazi et al., 2014).

Sin embargo, en las capacidades gustativa y olfativa, no existen cambios anatómicos consistentes (King y Lipsky 2015), y los datos relativos a las modificaciones en estas capacidades durante el envejecimiento son controvertidos (Jaeger, 2011). Estos cambios parecen ser resultado de umbrales más altos para detectar la salinidad y el dulzor y de una disminución del sentido del olfato incluyendo la discriminación del olor (King y Lipsky 2015).

Las alteraciones morfofisiológicas del envejecimiento en el sistema locomotor están relacionadas con la pérdida de masa ósea, degeneración articular, pérdida de masa muscular y ganancia de masa grasa (Jaeger, 2011; Esquenazi et al., 2014; King y Lipsky 2015). Todos los cambios experimentados por el sistema locomotor tendrán como resultado la disminución de la capacidad física y funcional, con el consecuente aumento del riesgo de caídas y fracturas (King y Lipsky 2015).

Así, debido a la importancia que las alteraciones sufridas por el sistema locomotor tienen sobre la autonomía funcional y la salud de las personas mayores, es importante profundizar el entendimiento de estas alteraciones, para que se pueda comprender las posibles consecuencias de las mismas en el desempeño de las actividades de la vida diaria de las personas mayores, así como trazar estrategias que puedan controlar tales cambios y minimizar las consecuencias de ellos.

**Tabla 1. Síntesis de algunos cambios morfológicos y funcionales causados por el envejecimiento en los sistemas cardiovascular, respiratorio, sensorial y locomotor.**

	<b>Cambios morfológicos</b>	<b>Cambios funcionales</b>
<b>Cardiovascular</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↑ de la matriz colágena en túnica media</li> <li>- ↓ de las fibras elastina</li> <li>- ↑ de la hipertrofia cardíaca</li> <li>- ↓ de los cardiomiocitos</li> <li>- ↑ de la matriz extracelular</li> <li>- ↓ de la utilización del oxígeno</li> <li>- ↑ de la resistencia periférica</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↑ de la rigidez vascular y cardíaca</li> <li>- ↑ de la disfunción endotelial</li> <li>- ↓ del volumen expulsivo</li> <li>- ↑ del riesgo de arritmias</li> <li>- ↓ de la respuesta cardíaca al estrés</li> <li>- ↑ de la tensión arterial en reposo</li> <li>- ↓ a la tolerancia al ejercicio</li> </ul>
<b>Respiratorio</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ de la elasticidad pulmonar</li> <li>- ↓ del número de alveolos</li> <li>- ↑ del tamaño y diámetro de los alveolos</li> <li>- ↓ de la acción ciliar</li> <li>- ↑ del diámetro anteroposterior del tronco</li> <li>- ↓ de la fuerza de contracción de los músculos respiratorios</li> <li>- ↑ calcificación de los cartílagos costales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↑ del volumen residual</li> <li>- ↓ de la capacidad vital</li> <li>- ↓ de la movilidad torácica</li> <li>- ↓ de la oxigenación de la sangre arterial</li> <li>- ↓ del cambio de gases</li> <li>- ↓ a la tolerancia al ejercicio</li> </ul>
<b>Sensorial</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ de la funcionalidad de las lentes</li> <li>- ↓ del tamaño de las pupilas</li> <li>- ↓ de la acomodación</li> <li>- ↓ de la secreción visual</li> <li>- ↓ del campo visual</li> <li>- ↓ de la elasticidad de la membrana del tímpano</li> <li>- ↓ del número de células nerviosas en el nervio craneal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ de la capacidad de focalizar</li> <li>- ↓ de la sensibilidad al contraste</li> <li>- ↓ de la discriminación de color</li> <li>- ↓ de la adaptación a la oscuridad</li> <li>- ↓ de la percepción de profundidad</li> <li>- ↓ del reflejo vestíbulo-ocular</li> <li>- ↓ del equilibrio</li> <li>- ↑ del riesgo de caídas</li> </ul>
<b>Locomotor</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↓ del CMO</li> <li>- ↓ de la DMO</li> <li>- ↑ de la degeneración de los cartílagos</li> <li>- ↓ de la elasticidad de las fibras musculares</li> <li>- ↑ de la atrofia muscular</li> <li>- ↑ de la grasa corporal</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- ↑ de la osteoporosis</li> <li>- ↓ de la flexibilidad</li> <li>- ↑ de la fragilidad</li> <li>- ↓ de la fuerza muscular</li> <li>- ↓ de la movilidad</li> <li>- ↓ de la independencia funcional</li> <li>- ↑ de la sensación de dolor</li> <li>- ↑ del riesgo de caídas</li> <li>- ↑ del riesgo de fracturas</li> </ul>

Adaptado de Salech et al. (2012) y King y Lipsky (2015).

## **2.4. Efectos del envejecimiento en la salud ósea, la composición corporal, la fuerza y la capacidad funcional**

A lo largo de la vida, es posible observar una clara relación entre el músculo esquelético y la masa ósea (Curtis et al., 2015). Además, la composición corporal y la función muscular tienen importantes implicaciones para las caídas y fracturas en personas mayores, siendo la pérdida de masa y de la fuerza muscular uno de los principales factores de riesgo para el incremento de las caídas y consecuentemente, fracturas en la región de la cadera (Scott et al., 2017).

En este sentido, es posible considerar que la pérdida de hueso, de músculo y de la fuerza con el avance de la edad puede representar una gran amenaza para el mantenimiento de la independencia funcional en la vida posterior (Curtis et al., 2015), ya que, a partir de los 35 años de edad se observa una disminución de la función, de la fuerza y de la potencia muscular, además de una reducción de la masa muscular (Eduards et al., 2015). Adicionalmente, también se observa una disminución de la cantidad de tejido óseo a partir de la cuarta década de vida (Zimmermann, Busse y Ritchie, 2015).

El proceso de envejecimiento puede promover cambios en la composición corporal, haciendo que, en individuos mayores de 50 años, la tasa de pérdida de la masa muscular sea de 1 a 2% al año, la tasa de pérdida de la fuerza muscular alcance valores anuales de 1,5 a 3% y la tasa de pérdida de masa ósea anual sea de 1 a 2% (Curtis et al., 2015). Todos estos cambios inducen a un incremento del riesgo de fracturas, con el avance de la edad, estimándose que, después de la quinta década de vida, una de cada dos mujeres y uno de cada cinco hombres sufrirán una fractura por fragilidad (Lorentzon y Cummings, 2015).

Adicionalmente, el envejecimiento está asociado con cambios en la estructura ósea que deterioran su resistencia y dureza, hecho que se ha correlacionado con un mayor riesgo de fractura (Zimmermann, Busse y Ritchie,

2015). Así es posible considerar que, el envejecimiento es el principal factor de riesgo para la osteoporosis y las fracturas (Farr y Khosla, 2016), siendo importante entender cómo el proceso de envejecimiento puede afectar la salud ósea, además de la composición corporal, de la fuerza y de la capacidad funcional.

#### 2.4.1. Envejecimiento y salud ósea

El hueso humano es uno de los materiales más intrigantes, ya que es una estructura de protección para el cuerpo humano, con la capacidad de tolerar daños, de adaptarse y de repararse. En el tejido sano, su compleja estructura y sus propiedades mecánicas le permiten resistir a fracturas en distintas condiciones fisiológicas de sobrecarga (Zimmermann y Ritchie, 2015), además de poder ajustar su resistencia mecánica a través de la remodelación. Sin embargo, el hueso es vulnerable al envejecimiento, a las condiciones ambientales y a diversas enfermedades genéticas o metabólicas que pueden afectar su integridad mecánica y aumentar el riesgo de fracturas (Zimmermann, Busse y Ritchie, 2015).

Bajo condiciones fisiológicas normales, el hueso está constantemente sometido a las acciones opuestas de dos tipos de células diferentes: los osteoblastos y los osteoclastos (Adams, Rowe y Ackert-Bicknell, 2016). Los osteoblastos son de origen mesenquimal y son responsables de la formación de la matriz ósea y de la mineralización. Los osteoclastos son de origen mieloide y son responsables de la resorción.

La remodelación ósea, que es la renovación constante y coordinada de la matriz ósea mineralizada en respuesta a estímulos mecánicos y/o endocrinos, se realiza mediante la acción coordinada de los osteoblastos y osteoclastos, de manera que uno puede influenciar la actividad del otro. Otras células óseas, los osteocitos, son capaces de detectar la tensión mecánica y promover la regulación de la remodelación ósea (Eastell et al., 2016).

El proceso de envejecimiento humano provoca la pérdida de osteocitos y esta pérdida coincide con la disminución de la resistencia ósea (Adams, Rowe y Ackert-Bicknell, 2016). La resistencia ósea también puede ser influenciada por factores como la carga física y la tensión mecánica provocada por la contracción muscular, por tanto, el aumento de la carga física y/o la tensión mecánica producirá como respuesta un incremento de las fuerzas de compresión, de la masa ósea y de la densidad ósea (Curtis et al., 2015). Por otro lado, la falta de estímulos mecánicos adecuados provoca pérdida ósea, mediada por un aumento proporcionalmente mayor de la resorción ósea sin un aumento en la formación ósea (Curtis et al., 2015).

Este deterioro de la resistencia ósea relacionado con el envejecimiento va a influir en las propiedades mecánicas generales y el riesgo de fractura en los huesos. El riesgo de fractura puede ser medido por medio de la absorciometría dual de rayos X (DXA), donde el grado de rayos X absorbido por el mineral óseo proporciona una predicción de este riesgo, basándose en la porosidad y cantidad de hueso (Zimmermann, Busse y Ritchie, 2015). La DXA va a medir tanto el contenido mineral óseo (CMO), como la densidad mineral ósea (DMO).

La DMO es una herramienta clave para identificar la osteoporosis, siendo valores de DMO 2,5 desviaciones estándar por debajo del pico de masa ósea (T-score de  $\leq -2,5$  desviaciones estándar) utilizados para definir operacionalmente la osteoporosis (Eastell et al., 2016). Conceptualmente, la osteoporosis puede ser definida como una enfermedad esquelética caracterizada por una baja DMO y un deterioro en la arquitectura del tejido óseo, con un consiguiente aumento de la fragilidad ósea y susceptibilidad a la fractura (Liu y Webster, 2016; Eastell et al., 2016; Adams, Rowe y Ackert-Bicknell, 2016; Edwards et al., 2015), siendo más común en las regiones de la cadera y columna vertebral (Eastell et al., 2016; Curtis et al., 2015).

La osteoporosis es un considerable problema para la salud pública pues está asociada con la mayoría de las fracturas que ocurren en las personas mayores. Sólo en Estados Unidos, se calcula que 10 millones de personas mayores de 50 años padecen de osteoporosis en la cadera, con

aproximadamente 1,5 millones de fracturas osteoporóticas cada año (Office of the Surgeon General, 2004; Eastell et al., 2016). Las fracturas son las secuelas clínicas más relevantes resultantes de la osteoporosis. Anualmente, se estima que 2 millones de fracturas son causadas por la osteoporosis, lo que lleva a más de 432.000 ingresos hospitalarios, 2.5 millones de visitas a consultorios médicos y alrededor de 180.000 admisiones en hogares de ancianos en los Estados Unidos (Liu y Webster, 2016).

En Europa, se estima que 27,6 millones de personas tienen osteoporosis relacionada con la edad y se observan cada año más de 3,5 millones de fracturas por fragilidad (Hernlund et al., 2013). Específicamente en España, en el año de 2010, de los casi 16 millones de personas mayores de 50 años, casi 3 millones fueron diagnosticadas con osteoporosis (15,4%), siendo esta prevalencia mayor en las mujeres (22,6%) en comparación con los hombres (6,8%) (Svedbom et al., 2013).

Adicionalmente, la incidencia de fracturas osteoporóticas aumenta con la edad y es aproximadamente dos veces más alta en mujeres que en hombres de todas las edades. En las mujeres, la incidencia de las fracturas de la muñeca y la columna vertebral comienza a aumentar considerablemente desde los 50 años de edad, mientras que las fracturas de cadera ocurren más tarde en la vida. En general, el patrón de incidencia de fracturas con la edad es similar en los hombres (Eastell et al., 2016).

Considerando que el número de personas mayores de 65 años en el mundo está aumentando, es posible esperar que el número de fracturas relacionadas con el proceso de envejecimiento también aumente. Además, todas las fracturas tienen consecuencias físicas indeseables, que impactan directamente en la calidad de vida de las personas mayores, especialmente cuando estas fracturas se localizan en la columna lumbar o cadera, pues estarán asociadas con deformidad, miedo a la caída, dolor crónico, limitaciones de vida diaria, inmovilidad, morbilidad excesiva y mortalidad prematura, especialmente en el primer año después de la fractura (Eastell et al., 2016).

Sin embargo, la práctica de actividad física regular puede prevenir la pérdida de masa ósea, pues parece ejercer un efecto protector significativo

sobre la DMO en la columna lumbar (Curtis et al., 2015). En esta línea, actualmente, los tratamientos para la osteoporosis están incluyendo en sus recomendaciones la optimización de la ingesta dietética de calcio y vitamina D y la práctica regular de ejercicios físicos (Liu y Webster, 2016), ya que el ejercicio físico, hasta mismo en personas mayores cuya capacidad adaptativa al entrenamiento no es tan eficiente, fue capaz de incrementar la DMO (Nilsson et al., 2017; Liao et al., 2016; Uth et al., 2016; Allison et al., 2015). Sin embargo, los efectos positivos de la práctica de ejercicios sobre la DMO se pierden si el programa de ejercicio se detiene (Eastell et al., 2016). Así, el objetivo de los programas de promoción de la salud ósea debe ser mantener y prevenir la pérdida de la masa ósea, pues en este caso esta estrategia es más fácil que recuperar la masa ósea perdida (Liu y Webster, 2016).

#### 2.4.2. Envejecimiento y composición corporal

Los seres humanos han evolucionado para aprovechar los períodos de abundancia alimenticia almacenando la energía en el tejido adiposo, para su uso durante los períodos de escasez de alimentos, haciendo que los seres humanos con mayores cantidades de tejido adiposo tuvieran mayor probabilidad de supervivencia (Neel, 1962). Actualmente, bajo condiciones de suministro estable de alimentos, este mecanismo puede generar como proceso adaptativo incrementos de las tasas de sobrepeso y obesidad (Jura y Kozak, 2016).

El tejido adiposo es un tejido conjuntivo cargado con adipocitos, con funciones de almacenamiento energético, termorregulación, protección mecánica, respuesta inmune y respuesta endocrina. Además, el tejido adiposo ejerce efectos benéficos sobre el crecimiento, la reproducción y el metabolismo de glucosa (Jura y Kozak, 2016).

Este tejido está compuesto aproximadamente por el 80% de grasa y 20% de agua, proteínas y minerales, correspondiendo, en media, a un 21% de la masa corporal de un “hombre medio”, con 1,70 m y 70 Kg (Zamboni et al.,

2014). Las cantidades mínimas de tejido adiposo indicadas para el buen funcionamiento de la salud son de un 3% para los hombres y un 12% para las mujeres (Jura y Kozak, 2016).

Los cambios en el estilo de vida del hombre moderno están induciendo un estado de balance energético positivo crónico, durante el proceso de envejecimiento, llevando al acúmulo excesivo de tejido adiposo (Jura y Kozak, 2016), especialmente en la regiones intra-abdominal, intra-hepática e intramuscular (Kalish, 2016). Este cambio en la adiposidad, puede generar cuadros de sobrepeso u obesidad que están relacionados con el incremento de la discapacidad en personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014).

El porcentaje de grasa corporal parece aumentar progresivamente hasta la octava década de vida y estabilizarse (Schaap, Koster y Visser, 2013). Además, el envejecimiento también está asociado a cambios que resultan en disminución de la masa magra (MM), incremento de la masa grasa (MG) del tronco, aumento de la infiltración de grasa en los tejidos y órganos e incremento de la liberación de citoquinas pro-inflamatorias (Jura y Kozak, 2016; Kalish, 2016; Zamboni et al., 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013; Teodoro et al., 2010). Una posible explicación para estos cambios en la composición corporal está en la reducción de la actividad física, reducción del gasto energético diario, asociados con cambios hormonales propios de la edad (Kalish, 2016; Schaap, Koster y Visser, 2013), que podrán repercutir en la sensibilidad a la insulina y empeoramiento de las condiciones de salud del individuo (Jura y Kozak, 2016; Zamboni et al., 2014).

Considerando la predisposición al incremento de la MG con el envejecimiento, actualmente, se estima que la prevalencia de obesidad (IMC  $\geq$  30 Kg/m<sup>2</sup>) entre personas mayores de 60 años sea de un 35,4% (Kim et al., 2016), siendo un 37% para los hombres y un 42% para las mujeres (Brady, Straight y Evans, 2014).

Estos niveles de obesidad relacionados con el envejecimiento están asociados con un mayor riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas, reducción de la capacidad funcional, incremento de los gastos en la salud y mortalidad prematura (Kim et al., 2016; Jura y Kozak, 2016; Brady, Straight y

Evans, 2014). Además, la localización de la grasa también es importante, ya que altas cantidades de grasa intra-abdominal están relacionadas con la diabetes mellitus, el síndrome metabólico, la lipotoxicidad en distintos órganos, los niveles más elevados de citoquinas pro-inflamatorias, además de la osteoartritis, la discapacidad física, la enfermedad cardiovascular y los diversos tipos de cáncer (Jura y Kozak, 2016; Kalish, 2016).

Otra cuestión importante es, que, como consecuencia del envejecimiento, la desregulación de las moléculas bioactivas producidas por el tejido adiposo, denominadas adipocinas, está relacionada con la resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y la morbilidad y mortalidad de las enfermedades cardiovasculares (Zamboni et al., 2014). Estas adipocinas ejercen efectos de forma paracrina y/o autocrina sobre varios tejidos, especialmente efectos pro-inflamatorios y pro-aterogénicos. El tamaño del adipocito guarda estrecha relación con la expresión y secreción de las adipocinas (Zamboni et al., 2014). Este nivel crónicamente elevado de marcadores pro-inflamatorios en las personas mayores se ha definido como "*inflammaging*".

En general, la redistribución de la MG y la acumulación de la misma con la edad, conducen a un fallo en la regulación de la secreción de adipocinas que está relacionado con la inflamación local y sistémica. Es probable que la creciente incidencia de obesidad entre las personas mayores, pueda intensificar el problema de los procesos de inflamación relacionados con la edad con un riesgo creciente de desarrollar enfermedades crónicas, morbilidad, discapacidad y mortalidad prematura (Jura y Kozak, 2016; Kalish, 2016).

Además, otros indicadores de sobrepeso y/u obesidad que se asocian al deterioro funcional en las personas mayores son el IMC y la circunferencia de cintura (Kalish, 2016; Schaap, Koster y Visser, 2013), que están fuertemente relacionados con el aumento del riesgo de fractura en el tobillo, la pierna, el húmero y la columna vertebral en las mujeres obesas (Kalish, 2016), además de movilidad reducida y la discapacidad, sugiriendo que el exceso de grasa corporal, así como la distribución de la MG, tienen influencia en el cambio

funcional durante el proceso de envejecimiento (Schaap, Koster y Visser, 2013).

Igualmente, personas mayores obesas frecuentemente presentan debilidad muscular, baja movilidad, dolor crónico, mayor tasa de fragilidad y mayores tasas de caídas, lo que amplifica las pérdidas funcionales y predispone a estas personas a una mayor vulnerabilidad a la discapacidad física (Kalish, 2016), sugiriendo que la adiposidad es un fuerte contribuyente a la pérdida de la capacidad funcional, especialmente en los miembros inferiores (Brady, Straight y Evans, 2014).

Sin embargo, alteraciones en el estilo de vida, que producen pérdida de peso, ya son capaces de producir mejoras significativas en la calidad de vida y la función física de las personas mayores con sobrepeso u obesidad (Kalish, 2016). Así, la actividad física debería ser incorporada en los programas de promoción y mantenimiento de la salud para personas mayores, con el objetivo de mantener la fuerza y la MM, la DMO, disminuir la MG, además de promover mejoras en la capacidad funcional de estas personas.

Al mismo tiempo que el envejecimiento induce al aumento de la MG en las personas mayores, de igual manera también provoca una disminución de la MM, que incluye el músculo estriado esquelético (Kim et al., 2016; Buch et al., 2016).

El músculo esquelético es el órgano más grande del cuerpo humano, constituyendo cerca de 40-50% del peso corporal y sus principales funciones son mantener la estructura esquelética, promover la locomoción y el control metabólico (Brook et al., 2016; Jura y Kozak, 2016). El músculo esquelético posee una característica denominada “plasticidad”, o adaptabilidad, que sufre cambios causados por el proceso de envejecimiento y determina la respuesta de este tejido frente a la sensibilidad a la insulina, al metabolismo, a la utilización de los sustratos energéticos, a la función mitocondrial y a la respuesta hipertrófica (Cartee et al., 2016). Adicionalmente, el tejido muscular posee una capacidad adaptativa y regenerativa en respuesta al ejercicio o a la lesión (Brook et al., 2016). Por lo tanto, el mantenimiento del músculo esquelético durante todo el curso de la vida no sólo preserva la independencia

física y la capacidad funcional, sino que también confiere protección a una serie de enfermedades metabólicas.

Bajo condiciones fisiológicas, la MM total y el tamaño muscular encuentran su ápice aproximadamente a los 24 años de edad, al igual que la fuerza muscular, siendo observada solamente una ligera (10%) disminución en el tamaño del músculo hasta la quinta década de vida (Buch et al., 2016). Ya entre los 50 y los 80 años de edad se produce una disminución adicional anual de aproximadamente, 1% en el área de sección transversal muscular, totalizando una pérdida media aproximada del 30% en la MM (Buch et al., 2016; Brook et al., 2016; Brady, Straight y Evans, 2014).

Debido a la pérdida de MM ocasionada por el proceso de envejecimiento, entre los 75 y los 80 años, la MM constituirá solamente un 25% de la masa corporal total (Jura y Kozak, 2016). Por tanto, la mayoría de las personas de 70 a 80 años de edad poseen sólo el 60 a 80% de la MM que tenían a sus 25 a 30 años de edad (Witard et al., 2016).

Así, es posible considerar que la disminución gradual y progresiva del tamaño y la calidad del músculo esquelético es una consecuencia inevitable de la edad avanzada (Witard et al., 2016), siendo este un proceso biológico irreversible, donde la función física disminuirá con el envejecimiento, independientemente del nivel de actividad física de sujeto (Latorre-Romanetal.2015). Sin embargo, el estilo de vida sedentario y el deterioro de la condición física, acelera este proceso de pérdida de MM (Latorre-Roman et al., 2015), especialmente en las fibras musculares de tipo II, o de contracción rápida (Gluchowski et al., 2015).

La exposición crónica a la sobrecarga de lípidos en personas mayores obesas, conduce a una infiltración de grasa en el músculo, que es también una característica del proceso de envejecimiento (Jura y Kozak, 2016). Esta infiltración de grasa muscular es denominada mioesteatosis y puede ser distinguida en dos depósitos lipídicos distintos: el tejido adiposo intermuscular o lípidos extramiocelulares, compuesto por porciones lipídicas con adipocitos intercalados y localizado entre las fibras musculares; y lípidos intramusculares o intramiocelulares, localizados dentro de las fibras en forma de triacilgliceroles

citósolicos (Zamboni et al., 2014). La mioesteatosis incrementa con la edad y está asociada a disminución de la fuerza muscular y de la movilidad (Zamboni et al., 2014).

Otra importante consideración sobre la relación del envejecimiento con la MM es que la tasa de pérdida de la MM y de la fuerza muscular no ocurre de manera lineal, siendo la pérdida de la MM un proceso natural con el avance de la edad, agravado por episodios esporádicos de desuso muscular (Witard et al., 2016). La pérdida de la MM es producida por el desuso muscular en cualquier edad. En personas mayores, que ya experimentan una disminución normal de la MM y la fuerza relacionada con la edad, periodos prolongados y/o frecuentes de desuso muscular potencializan aún más estas pérdidas (Witard et al., 2016).

A la pérdida de fuerza y MM relacionada con la edad se denomina sarcopenia (Beaudart et al., 2017; Kim et al., 2016; Brady, Straight y Evans, 2014). La sarcopenia está asociada con la disminución de la movilidad, un aumento del riesgo de morbilidad y discapacidad, además de la disminución de la calidad de vida en las personas mayores (Kim et al., 2016; Witard et al., 2016). Su diagnóstico está caracterizado por la medición de la MM, de la fuerza muscular y del rendimiento físico (Beaudart et al., 2017), estando relacionado con la disminución de estas variables (Witard et al., 2016). Se estima que la prevalencia de la sarcopenia entre los 60 y los 70 años es del orden del 5 al 13%, aumentando hasta el 50% en la población de 80 años o más (Buch et al., 2016).

Los mecanismos que contribuyen a la sarcopenia son multifactoriales e incluyen función endocrina alterada, niveles de actividad física y nutrición inadecuados, aumento de la inflamación, daño en el material genético, estrés oxidativo elevado, disfunción mitocondrial, y apoptosis celular (Witard et al., 2016; Brady, Straight y Evans, 2014), con consecuencias directas sobre la capacidad física y funcional de las personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014).

Así, la pérdida de MM ocasionada por el envejecimiento puede describirse como un proceso multifactorial afectado por factores biológicos (envejecimiento primario) y factores ambientales o comportamentales

(envejecimiento secundario) (Cartee et al., 2016). Entre estos factores está la función mitocondrial, que parece estar directamente involucrada en los mecanismos de pérdida de MM asociada al envejecimiento, pues la síntesis y degradación mitocondrial se encuentra afectada por el avance de la edad y la inactividad física, desencadenando un complejo mecanismo fisiopatológico responsable de cambios estructurales y metabólicos en las fibras musculares, que induce a un mal funcionamiento mitocondrial y activa las vías de eliminación de estas mitocondrias (Cartee et al., 2016).

Otro posible mecanismo que intenta explicar la pérdida de MM con el envejecimiento es la resistencia anabólica, definida como la reducción de la capacidad del músculo esquelético para promover la síntesis de proteínas musculares, bajo condiciones adecuadas de aporte proteico (Witard et al., 2016). Con el avance de la edad, la resistencia anabólica contribuye a la pérdida gradual de la MM por medio de mecanismos que incluyen la disfunción en la absorción, en el transporte y la digestión de las proteínas/aminoácidos, lo que da como resultado una disminución del aporte de aminoácidos al músculo, con la consecuente disminución de la síntesis de proteínas musculares (Witard et al., 2016). Sin embargo, se postula que el ejercicio puede incrementar la capacidad del músculo esquelético en responder a la biodisponibilidad de aminoácidos y aumentar la síntesis proteica.

En general, la pérdida de MM inducida por el envejecimiento provoca pérdidas más acentuadas de fibras de tipo II y en consecuencia la muerte de las motoneuronas alfa y/o de la denervación periférica en la unión neuromuscular (Cartee et al., 2016). Sin embargo, esta pérdida de MM puede estar enmascarada por el mantenimiento de la masa corporal total, por medio de la acumulación de MG (Brook et al., 2016). Esta pérdida de material contráctil muscular está relacionada con la reducción de la fuerza, principalmente debido a la disminución del área de sección transversa de las fibras de tipo II, siendo más pronunciada en los miembros inferiores (Brook et al., 2016).

A su vez, la pérdida de MM en los miembros inferiores está asociada con el deterioro funcional, la disminución de la calidad de vida y el aumento del

riesgo de muerte (Brook et al., 2016). Además, la disminución de la capacidad física y la movilidad conlleva a un mayor riesgo de desarrollo de morbilidad metabólica (Buch et al., 2016), ya que, el músculo esquelético, conjuntamente con la locomoción, es el principal responsable de la captación de glucosa mediada por la insulina (Alvim et al., 2015).

En este sentido, los cambios desfavorables ocasionados por el envejecimiento en la composición corporal, especialmente en la MG y la MM, pueden resultar en consecuencias devastadoras para la salud de la persona mayor, como la disminución de la potencia muscular, la disminución de la movilidad y de la capacidad funcional y el aumento de la inflamación sistémica (Kim et al., 2016; Gluchowski et al., 2015). Así, tanto los aumentos en la MG como los descensos de la MM contribuyen de forma independiente a la disminución de la capacidad funcional, agravando aún más el proceso de deterioro físico que está asociado al proceso de envejecimiento (Brady, Straight y Evans, 2014). Sin embargo, parece ser que la cantidad de MM es el predictor más fuerte de la capacidad funcional en personas mayores, ya que, un incremento de 1 Kg de MM en la pierna puede reducir las probabilidades de desarrollo de limitaciones funcionales en un 53% (Reid et al., 2008).

La práctica de ejercicios físicos y la nutrición parecen ser los candidatos más prometedores para la promoción del envejecimiento saludable (Witard et al., 2016). Específicamente para mantener e incrementar la MM, la nutrición y el entrenamiento de fuerza se postulan como protagonistas (Brook et al., 2016). Por tanto, el entrenamiento de fuerza debería ser incluido en los programas para control de la MG y mantenimiento o incremento de la MM, ya que pueden provocar ganancias significativas en la capacidad física, la calidad de vida y en la independencia funcional (Kalish, 2016).

En conformidad con esta idea, Cruz-Jentoft et al. (2014) publicaron una revisión sistemática sobre los efectos del ejercicio físico y la suplementación dietética sobre la sarcopenia, encontrando que el entrenamiento de fuerza incrementó la fuerza muscular y el rendimiento físico en las personas mayores. Además, la combinación de entrenamiento de fuerza con ejercicios aeróbicos

también produjo resultados positivos en el mantenimiento de la MM y en la reducción de la MG (Kim et al., 2016).

Por tanto, es posible pensar que, en la sociedad contemporánea, la disminución de los niveles de actividad física asociada a la pérdida de MM y ganancia de MG, va a promover que la composición corporal desempeñe un papel clave en las tasas de discapacidad entre las personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014). Así, intentar que estas personas mantengan un estilo de vida activo puede ayudar en la conservación de los niveles de fuerza y capacidad funcional (Latorre-Roman et al., 2015), siendo actualmente, el entrenamiento de fuerza considerado como la estrategia más eficaz para aumentar la MM, la fuerza y la calidad muscular durante el proceso de envejecimiento (Brook et al., 2016).

#### 2.4.3. Envejecimiento, fuerza y capacidad funcional

Conjuntamente con la pérdida de DMO, MM y acúmulo de MG, un signo distintivo del envejecimiento es la disminución del rendimiento neuromuscular (Cartee et al., 2016). Los individuos de edad más avanzada tienen menos fuerza, energía y calidad en el músculo, comparados con sus congéneres más jóvenes (Brady, Straight y Evans, 2014). Adicionalmente, el envejecimiento también parece afectar negativamente la relación entre la fuerza/potencia muscular de los miembros inferiores y el equilibrio (Muehlbauer, Gollhofer y Granacher, 2015).

A partir de la sexta década de vida, los procesos degenerativos del envejecimiento pasan a afectar más acentuadamente las pérdidas de la fuerza muscular y del rendimiento físico, denominada dinapenia (Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Brady, Straight y Evans, 2014). Si comparamos con la pérdida de MM, la pérdida de fuerza es aún más acentuada, con descensos anuales de aproximadamente 3-4% para hombres y 2,5-3% para mujeres (Witard et al., 2016; Brady, Straight y Evans, 2014), siendo mayor en las

extremidades inferiores y afectando más a la potencia muscular (McKinnon et al., 2017; Cartee et al., 2016).

La potencia muscular está más afectada por el proceso de envejecimiento por ser más sensible a la degeneración neuromuscular, especialmente, relacionada con la pérdida de fibras tipo II, pues esta pérdida perturba directamente a la velocidad contráctil (McKinnon et al., 2017). Se estima que la disminución de la potencia muscular es de un 10% mayor que las pérdidas en la fuerza muscular en las personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014).

A su vez, la calidad muscular (CM), definida como la relación entre la fuerza/potencia muscular por unidad de MM (Fabbri et al., 2017), también disminuye con el avance de la edad, indicando que no sólo la atrofia, sino la dinapenia está influenciada por factores que resultan en disminución de la CM (Cartee et al., 2016). El deterioro de factores neurales, cómo la pérdida de motoneuronas alfa y de factores morfológicos, como la disminución del número y tamaño de las fibras tipo II, así como la interacción de estos factores son los principales responsables del descenso de la CM relacionada con la edad (Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Muehlbauer, Gollhofer y Granacher, 2015).

Al mismo tiempo, el envejecimiento parece estar asociado con la pérdida o alteración morfológica de neuronas corticales, así se observa en personas mayores de 65 años una reducción de un 43% en el volumen de neuronas corticales (McKinnon et al., 2017). También se observa una desmielinización aparente en el sistema nervioso periférico, produciendo la disminución de la velocidad de conducción axonal, es decir, reduciendo la eficacia de las neuronas que realizan la transmisión de comandos motores a los músculos (McKinnon et al., 2017). Así, estos cambios estructurales en las neuronas, tanto en el sistema nervioso central como en el periférico, pueden afectar la funcionalidad de la persona por impactar en la capacidad de transmisión y ejecución de las tareas motoras. Conjuntamente, el proceso de envejecimiento también promueve el deterioro del mecanismo de acoplamiento, excitación-

contracción y/o de otros mecanismos subcelulares responsables de la generación de fuerza rápida (Cartee et al., 2016).

Estas alteraciones están reflejadas especialmente en la capacidad de locomoción, donde se observa que las personas mayores tienen una menor rapidez de respuesta y de ajustes posturales frente a episodios de perturbación del equilibrio, hecho que lleva a una mayor incidencia de caídas en estas personas (McKinnon et al., 2017).

De esta manera, es posible considerar que las pérdidas de fuerza/potencia y MM, especialmente en los miembros inferiores, durante el envejecimiento están fuertemente asociadas con disminuciones en la capacidad física, en la movilidad y posteriormente, discapacidad física con impactos directos en la calidad de vida de las personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013).

En el adulto mayor, la capacidad funcional se mide por medio de la realización de acciones relacionadas con las actividades de la vida diaria, que incluyen tareas de autocuidado como bañarse, vestirse, moverse, etc., así como tareas instrumentales necesarias para una vida independiente (Gluchowski et al., 2015). Sin embargo, las alteraciones producidas por el envejecimiento llevan inicialmente, a un deterioro funcional y en casos más graves, a la discapacidad y a la muerte (Witard et al., 2016).

Se estima que un 23% de los individuos con edad entre 60 y 69 años presenten una o más limitaciones físicas, incrementando el número y la gravedad de la limitación con el avance de la edad. Más concretamente, entre las edades de 70 y 90 años la proporción de mujeres con discapacidad física se incrementa del 22% al 81%, mientras que la proporción de hombres aumenta del 15% al 57% (Brady, Straight y Evans, 2014).

Las limitaciones y/o la discapacidad física que se observa en las personas mayores es resultado de la reducción en el nivel de actividad física, los cambios adversos en la composición corporal y la disminución en la capacidad muscular que están relacionados con la edad (Muehlbauer,

Gollhofer y Granacher, 2015; Brady, Straight y Evans, 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013).

El IMC aumentado está asociado al deterioro funcional en personas mayores, siendo un IMC  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup> asociado a 1,6 veces más chances de deterioro de la capacidad funcional (Schaap, Koster y Visser, 2013). Además, el perímetro de cintura aumentado o un porcentual de grasa corporal elevado también son predictores de deterioro funcional (Schaap, Koster y Visser, 2013).

Los bajos niveles de fuerza muscular, también estuvieron asociados a una menor capacidad funcional en personas mayores, siendo la fuerza muscular un fuerte predictor de limitación funcional y discapacidad (Buch et al., 2016; Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Schaap, Koster y Visser, 2013). La pérdida de fuerza se asoció a 1,86 veces más chances de deterioro de la capacidad funcional (Brady, Straight y Evans, 2014). Igualmente, es posible considerar la fuerza muscular como un predictor independiente de la mortalidad, ya que la razón de tasas instantáneas (*hazard ratio*) entre la mortalidad y la fuerza del cuádriceps es de 1,36 para los hombres y 1,56 para las mujeres (Buch et al., 2016).

La medida de la CM, que incluyen la fuerza/potencia muscular y la MM, parecen captar más adecuadamente las capacidades funcionales de un individuo. Aunque la fuerza/potencia muscular se relacione con los cambios en la actividad física habitual, otros cambios en el sistema locomotor que ocurren durante el proceso de envejecimiento, tales como las alteraciones en la función neuromuscular y la pérdida de MM, también pueden afectar a la capacidad funcional (Brady, Straight y Evans, 2014). En este sentido, las mujeres experimentan una pérdida de la CM de aproximadamente un 2% al año, y los hombres cerca de 2,5% al año (Brady, Straight y Evans, 2014).

Sin embargo, la potencia muscular parece ser el mejor predictor de la capacidad funcional, pues está fuertemente asociada con la velocidad de la marcha, el equilibrio y la funcionalidad en general, siendo la manifestación de la fuerza más importante para la realización de las actividades de la vida diaria, como subir escaleras, levantarse de una silla o desplazarse por la casa (Brady, Straight y Evans, 2014).

Otro factor que afecta la salud de las personas mayores es el riesgo de caídas, que está relacionado con el proceso de envejecimiento y sus morbilidades asociadas, como la pérdida de la fuerza/potencia y de la MM, del equilibrio y del tiempo de reacción (McKinnon et al., 2017; Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Gluchowski et al., 2015; Brady, Straight y Evans, 2014).

Más allá de la salud física, las caídas pueden representar una experiencia emocional o psicológica traumática para el individuo, ya que la caída puede inducir al miedo de una nueva caída, con la reducción de la movilidad, el aumento del aislamiento social, la pérdida de independencia en las actividades de la vida diaria y la transición de la persona a un centro de atención (McKinnon et al., 2017).

En este sentido, uno de los principales factores que determinan el riesgo de caídas es la debilidad muscular de los miembros inferiores, aumentando en 5 veces el riesgo de caídas en personas mayores (Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Muehlbauer, Gollhofer y Granacher, 2015). Esta debilidad muscular puede ser inducida por la pérdida de fuerza/potencia y/o de MM, pues la reducción de la fuerza muscular, especialmente de la potencia muscular, lleva al individuo a una incapacidad de reaccionar rápidamente frente a un episodio de perturbación en el equilibrio, tanto durante la marcha, como durante otras tareas de movilidad (McKinnon et al., 2017; Muehlbauer, Gollhofer y Granacher, 2015).

En esta misma línea, además de las disfunciones neuromusculares en los miembros inferiores, la resistencia/estabilidad de los músculos del “core” también están relacionadas con la reducción de la movilidad, deterioros en el equilibrio y en el rendimiento físico general, siendo objeto de investigación en intervenciones para la disminución de los problemas de equilibrio y del riesgo de caída en la población de adultos mayores (Granacher et al., 2013).

El síndrome de la fragilidad se basa en la presencia de tres o más criterios como son encorvamiento, debilidad, baja resistencia, lentitud energética y bajo nivel de actividad física. Este es otro factor que también influye en variables relacionadas con la independencia funcional de las personas mayores como la marcha, la movilidad, el equilibrio, el procesamiento

motor, la cognición, la nutrición y la capacidad física y está directamente asociado con consecuencias adversas para la salud, como las caídas, la discapacidad, la hospitalización e incluso, la mortalidad (de Labra et al., 2015).

Por tanto, es posible concluir en general, que la alta MG y la baja CM (fuerza/potencia y MM) están asociadas con el envejecimiento, de forma interrelacionada y deben ser consideradas a la hora de determinar y tratar el deterioro funcional en las personas mayores (Schaap, Koster y Visser, 2013). En este sentido, se sabe que niveles de actividad física disminuidos están relacionados a alteraciones negativas en la composición corporal, en los niveles de fuerza y en la capacidad funcional y que los niveles de actividad física disminuyen con la edad (Brady, Straight y Evans, 2014).

La posición del *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2011; ACSM, 2009) establece que la práctica de actividad física regular en personas mayores resultan en adaptaciones positivas en el organismo que contribuyen a un envejecimiento saludable, siendo beneficioso en la reducción del riesgo de desarrollo del síndrome de fragilidad, del riesgo de caídas, de la disfunción cognitiva, cardíaca y pulmonar, además de mejorar la capacidad física, el equilibrio, la movilidad, la fuerza/potencia muscular, la composición corporal y la capacidad funcional. En particular, el entrenamiento de fuerza parece promover resultados más robustos en la capacidad funcional (Brady, Straight y Evans, 2014).

Así, programas dirigidos a personas mayores que objetiven la mejora de la salud en general y de la capacidad funcional en particular deben estar compuestos de estrategias que promuevan la pérdida de la MG, incrementen la fuerza/potencia y la MM, especialmente de los miembros inferiores, pues esta parece ser la intervención que mejor resultados promueve sobre la capacidad funcional de estas personas (Brady, Straight y Evans, 2014; Granacher et al., 2013).

## **2.5. Efectos del entrenamiento de fuerza sobre la fuerza muscular, la capacidad funcional, la composición corporal y la salud ósea de personas mayores**

El *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2011) propone el entrenamiento de la fuerza muscular como forma de prevenir enfermedades y mejorar la capacidad física y funcional en personas de todas las edades, especialmente en personas mayores (ACSM, 2009).

En esta línea, diferentes grupos de investigación están estudiando los efectos del entrenamiento de fuerza en persona mayores, utilizando diferentes métodos y estrategia de entrenamiento (Matos et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2017; Mazini-Filho et al., 2017; Frank et al., 2016; Fragala et al., 2014; Pinto et al., 2014). Entre las distintas estrategias se encuentra el entrenamiento de fuerza de corta duración (EFCD). Este tipo de entrenamiento hace referencia a los programas que tienen duración de hasta 12 semanas (Kimura et al., 2010; Lowndes et al., 2009), aunque algunos autores consideran incluso hasta 16 semanas (Moran et al., 2017).

En la literatura científica, no se ha establecido una definición con la que remitirnos al EFCD. Por ello, los estudios que emplean esta estrategia en personas mayores emplean distintos tipos de entrenamiento, como entrenamiento funcional (Matos et al., 2017), entrenamiento de fuerza basado en la velocidad (Ramirez-Campillo et al., 2017), entrenamiento de fuerza con bandas elásticas (Kim et al. 2015) o el entrenamiento de fuerza tradicional (Zhao et al., 2017), con diferentes volúmenes e intensidades. Esto hace que los resultados obtenidos entre los diferentes estudios tengan un carácter heterogéneo.

Con la finalidad de describir los principales efectos del entrenamiento de fuerza sobre la fuerza muscular, la capacidad funcional, la composición corporal y la salud ósea en personas mayores, se decidió llevar a cabo una revisión sistemática de la literatura científica y meta-análisis sobre ensayos clínicos y ensayos controlados aleatorizados que examinaron los efectos del

EFCD; así como, el efecto de esta intervención sobre las diferentes manifestaciones de la fuerza muscular en los miembros inferiores, la capacidad funcional, la composición corporal y la salud ósea en personas mayores de 65 años.

Se planteó la hipótesis de que los sujetos que realizaron el EFCD aumentarían significativamente las distintas manifestaciones de la fuerza muscular en los miembros inferiores, así como la capacidad funcional al compararles con personas con similares características que no realizaron entrenamiento. Además, también se planteó la hipótesis de que el EFCD sería capaz de producir incrementos en la MM, CMO y DMO, con reducciones de la MG.

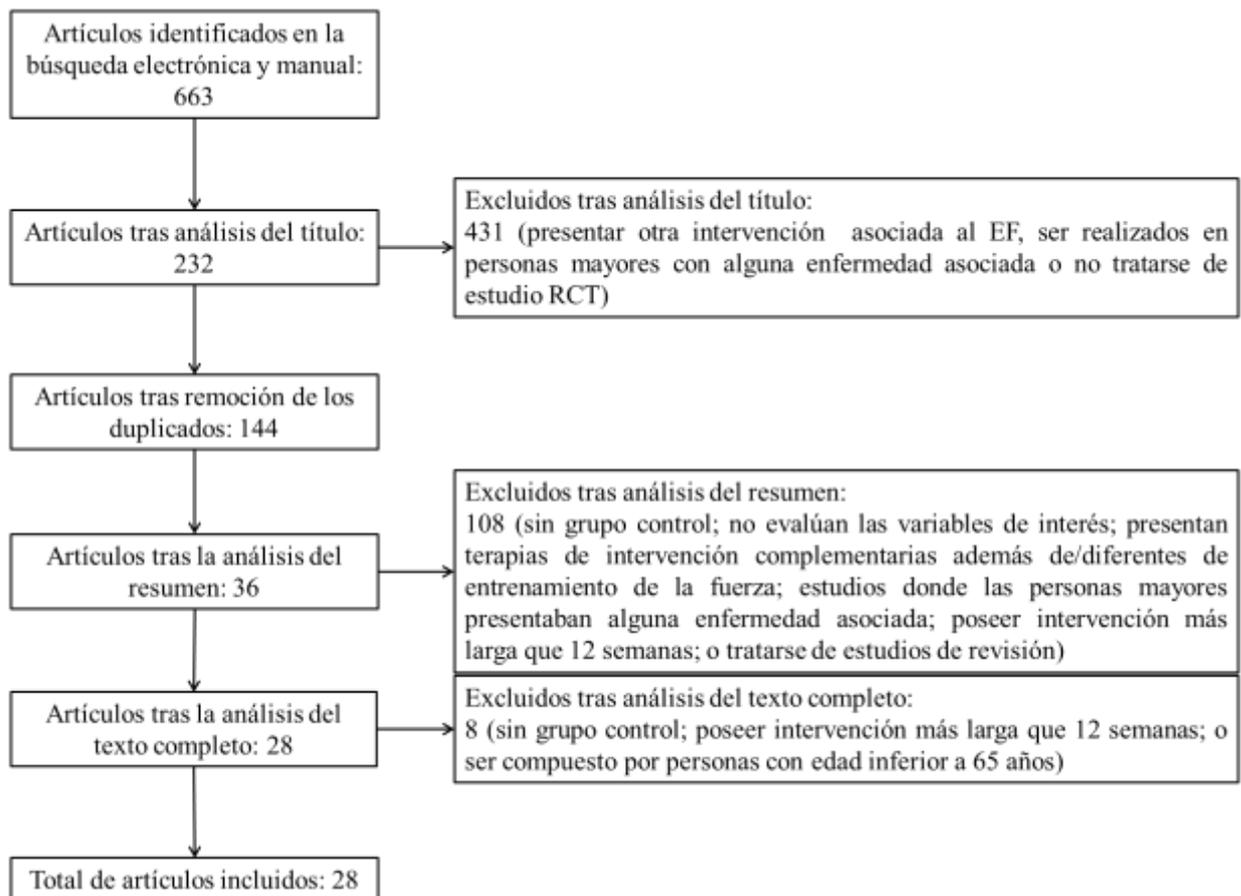
La realización de esta revisión sistemática siguió las pautas de los *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses Protocols* (PRISMA-P), mediante una búsqueda bibliográfica sistemática en las bases de datos electrónicas PubMed, Web of Science y en el Registro Cochrane Central de Ensayos Controlados (Cochrane) desde enero de 2012 hasta mayo de 2017. La búsqueda se realizó utilizando los términos *Medical Subject Headings* (MeSH) “*strength training*” y “*resistance training*” en combinación con “*elderly*”, “*older*” y “*aged*” (para los términos de búsqueda exactos en las distintas bases de datos, véase la Tabla 2), en el título, resumen y palabras clave.

**Tabla 2. Lista detallada de los artículos encontrados y los términos de búsqueda aplicados en las bases de datos seleccionadas.**

Base de datos	Artículos encontrados	Términos de búsqueda MeSH
PubMed	236	("resistance training" OR "strength training") AND (older OR aged OR elderly)
Cochrane	125	("resistance training" OR "strength training") AND (older OR aged OR elderly)
Web of Science	302	("resistance training" OR "strength training") AND (older OR aged OR elderly)

Fueron incluidos en la revisión sólo los ensayos controlados aleatorios y ensayos clínicos que examinaron el efecto del entrenamiento de fuerza en personas mayores de 65 años, publicados en los últimos cinco años, en inglés, que evaluaran el efecto del EFCD sobre las diferentes manifestaciones de la fuerza, la capacidad funcional, la composición corporal y la salud ósea. Se consideró como entrenamiento de fuerza una intervención en la que los participantes ejercitaron los MMII contra una resistencia externa, con evaluación bilateral. Los participantes deberían ser aleatorizados (*randomized controlled trial*), presentar un grupo control de personas mayores de 65 años y poseer una intervención máxima de 12 semanas. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: estudios de caso; estudios observacionales; estudios con grupos de comparación jóvenes; estudios que emplean terapias de intervención complementarias adicionales o diferentes del entrenamiento de fuerza y estudios donde las personas mayores presentaban alguna enfermedad asociada. Para los cálculos del meta-análisis, además de los criterios ya presentados, otro criterio de exclusión fue no aportar datos relativos al número de la muestra, media y desviación estándar de las variables.

Todos los artículos que cumplieron los criterios de inclusión predefinidos fueron evaluados utilizando la escala *Physiotherapy Evidence Database* (PEDro). La escala PEDro está compuesta por 11 ítems que evalúan la calidad metodológica de los estudios de intervención y los siguientes aspectos metodológicos: (1) criterios de admisión específica, (2) asignación al azar, (3) ocultamiento de la asignación, (4) similitud entre los grupos de importantes indicadores basales, (5) cegamiento de los participantes, (6) cegamiento de los terapeutas, (7) cegamiento de los evaluadores, (8) si más del 85% de los participantes completaron el seguimiento, (9) el análisis por intención de tratar, (10) comparaciones estadísticas entre los grupos y (11) las estimaciones puntuales y variabilidad para al menos una de las medidas de resultado primarias. Al calificar cada estudio, se consideró un valor mínimo de 6/11 en la escala PEDro para su inclusión en esta revisión sistemática, es decir aquellos estudios clasificados como de alta calidad (Maroto-Izquierdo et al., 2017). La figura 3 muestra un diagrama de flujo con las diferentes fases de la búsqueda y selección de los estudios incluidos.



**Figura 3. Diagrama de flujo que ilustra las diferentes fases de la búsqueda y selección de los estudios incluidos en la revisión (PRISMA).**

Las principales características de los estudios incluidos en esta revisión con respecto a los participantes, las intervenciones y los resultados se ilustran en la tabla 3. El número total de participantes en los estudios incluidos fue de 921. De estos, 536 participantes (58,2%) realizaron EFCD y 385 (41,8%) sirvieron como controles, sin realizar ningún tipo de entrenamiento sistematizado. Los principales tipos de entrenamiento de fuerza utilizados fueron el entrenamiento de fuerza tradicional (60,71%), seguido por el entrenamiento de fuerza de alta velocidad y el entrenamiento de fuerza con bandas elásticas, ambos utilizados en 14,29% de los estudios analizados. La duración de los entrenamientos varió entre 4 y 12 semanas, donde 42,86% de los estudios tuvieron una duración de 12 semanas, 25% de 8 semanas y

17,86% de 6 semanas. La frecuencia de los entrenamientos fue de 2 (75%) y 3 (25%) veces por semana. La intensidad en la mayor parte de los estudios fue controlada mediante porcentaje del 1RM (50%), variando entre 45 y 100% de la 1RM. El número total de series ejecutadas varió entre 1 a 4 series, aunque la mayoría de los estudios realizaron 3 series (50%). El número de repeticiones ejecutadas en cada serie varió entre 8 y 20 repeticiones, aunque la mayor parte de los estudios emplearon entre 10 y 12 repeticiones (21,43%).

Los principales resultados que muestran los estudios analizados fueron el incremento de la fuerza máxima dinámica (FMD) (Correa et al., 2012; Gerage et al., 2013; Valls et al., 2014; Sayers y Gibson, 2014; Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014; Mejías-Peña et al., 2017; Scalon et al., 2014; Kim et al., 2015; Gennuso et al., 2013; Emerson et al., 2015; Pinto et al., 2014; Walker y Häkkinen, 2014; Frank et al., 2016; Lohne-Seiler, Torstveit y Anderssen, 2013), de la fuerza máxima isométrica (FMI) (Gurjão et al., 2012; Kobayashi et al., 2016; Mejías-Peña et al., 2017; Rodriguez-Miguel et al., 2014; Walker y Häkkinen, 2014), de la potencia muscular (Valls et al., 2014; Sayers y Gibson, 2014; Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014; Zech et al., 2012) y de la capacidad funcional (Correa et al., 2012; Lee y Park, 2013; Granacher et al., 2013; Valls et al., 2014; Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014; Fragala et al., 2014; Lubans et al., 2013; Emerson et al., 2015; Pinto et al., 2014; Silva Correa et al., 2013; Smolarek et al., 2014). Además, algunos estudios reportaron incrementos en la MM (Correa et al., 2012; Delshad et al., 2013; Kobayashi et al., 2016; Pinto et al., 2014; Frank et al., 2016) y reducción en la MG (Zhao et al., 2017). Entre los estudios que cumplieron todos los criterios de inclusión y exclusión, no fue encontrado ningún estudio que evaluase las variables relacionadas con la salud ósea como la DMO o el CMO.

**Tabla 3. Características de los ensayos controlados aleatorios y ensayos clínicos que examinan los efectos del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre las distintas manifestaciones de la fuerza de los miembros inferiores, capacidad funcional y composición corporal de personas mayores de 65 años.**

Estudio	Tipo	nGC	nGE	Dur.	Frec.	Inten.	Series	Rep.	Resultados
Correa et al. (2012)	EFT	17	42	6	2	12 a 15 RM	2 a 3	12 a 15	↑: FMD, MM, CF;
Lee y Park (2013)	EFT	20	30	12	2	45 a 75% RM	3	10 a 12	↑: CF;
Gerage et al. (2013)	EFT	14	15	12	3	15 RM	2	10 a 15	↑: FMD; ↔: MM, MG
Delshad et al. (2013)	EFBE	10	10	12	3	80 a 100% RM	3	10	↑: MM; ↓: MG
Gurjão et al. (2012)	EFT	7	10	8	3	10 a 12 RM	3	10 a 12	↑: FMI
Zhao et al. (2017)	EFT	7	10	12	2	NR	NR	NR	↓: MG
Kobayashi et al. (2016)	EF explosiva	24	32	4	2	10 RM	3	10	↑: FMI, MM
Granacher et al. (2013)	EF funcional	16	16	9	2	NR	3 a 4	15 a 20	↑: CF
Martins et al. (2015)	EFBE	20	20	8	2	8 a 10 OMNI	2 a 3	15	↔: MM, RM
Valls et al. (2014)	EF explosiva	5	7	12	2	70% RM	3 a 4	10 a 12	↑: FMD, POT, CF
Sayers y Gibson (2014)	EFAV	18	24	12	2	40% RM	3	12 a 14	↑: FMD, POT
Ramirez-Campillo et al. (2017)	EFAV	15	30	12	3	45 a 70% RM	3	8	↑: FMD, POT, CF
Ramirez-Campillo et al. (2014)	EFAV	20	20	12	3	45 a 70% RM	3	8	↑: FMD, POT, CF
Mejías-Peña et al. (2017)	EFT	10	16	8	2	60 a 80% RM	3	10 a 12	↑: FMD, FMI
Scalon et al. (2014)	EFT	12	13	6	2	70 a 85% RM	2 a 4	8 a 12	↑: FMD; ↔: MM, MG
Fragala et al. (2014)	EFT	11	12	6	2	5 a 6 OMNI	3	8 a 15	↑: CF; ↔: MM
Lubans et al. (2013)	EFBE	22	22	8	2	12 a 16 RPE	2	10 a 15	↑: CF
Zech et al. (2012)	EFT	22	20	12	2	12 a 16 RPE	2	15	↑: POT; ↔: FMD, MM
Kim et al. (2015)	EFBE	8	22	12	2	12 a 13 RPE	2 a 3	12 a 15	↑: FMD; ↔: MM, MG
Gennuso et al. (2013)	EFT	13	12	8	2	5-6 OMNI	1	8	↑: FMD
Emerson et al. (2015)	EFT	12	11	6	2	70 a 85% RM	3	8 a 15	↑: FMD, CF; ↔: MM, MG
Rodriguez-Miguelez et al. (2014)	EFT	10	16	8	2	60 a 80% RM	3	10 a 12	↑: FMI
Pinto et al. (2014)	EFT	17	19	6	2	12 a 20 RM	2 a 3	12 a 20	↑: FMD, CF, MM
Walker y Häkkinen (2014)	EFT	11	26	10	2	60 a 85% RM	2 a 4	8 a 14	↑: FMD, FMI; ↔: MM
Frank et al. (2016)	EFT	9	12	8	3	75 a 80% RM	3	12	↑: FMD, MM
Silva Correa et al. (2013)	EFT	33	17	6	2	8 a 12 RM	3 a 4	8 a 12	↑:CF; ↔: FMI, MM, MG
Smolarek et al. (2014)	EFT	8	29	12	3	60 a 70% RM	3	10	↑:CF
Lohne-Seiler, Torstveit y Anderssen (2013)	EFAV	10	23	11	2	60 a 80% RM	3	10 a 12	↑: FMD; ↔: POT

nGC: número de sujetos en el grupo control; nGE: número de sujetos en el grupo experimental;

Dur.: duración del entrenamiento en semanas; Frec.: frecuencia semanal del entrenamiento;

Inten.: intensidad del entrenamiento; Rep.: número de repeticiones de los ejercicios; EFT:

entrenamiento de fuerza tradicional; EFBE: entrenamiento de fuerza con bandas elásticas;

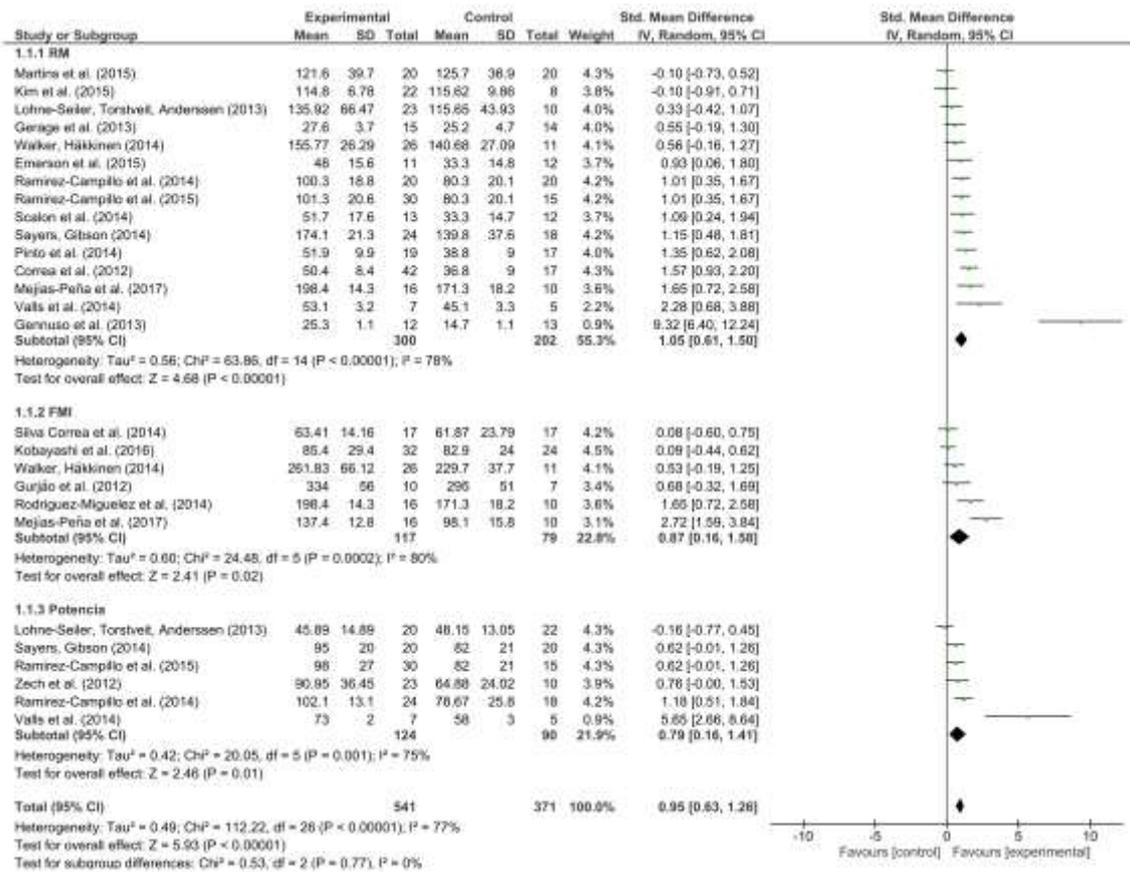
EFAV: entrenamiento de fuerza de alta velocidad; RPE: percepción subjetiva del esfuerzo; NR:

no reportado; FMD: fuerza máxima dinámica; FMI: fuerza máxima isométrica; POT: potencia

muscular; CF: capacidad funcional; MM: masa magra; MG: masa grasa.

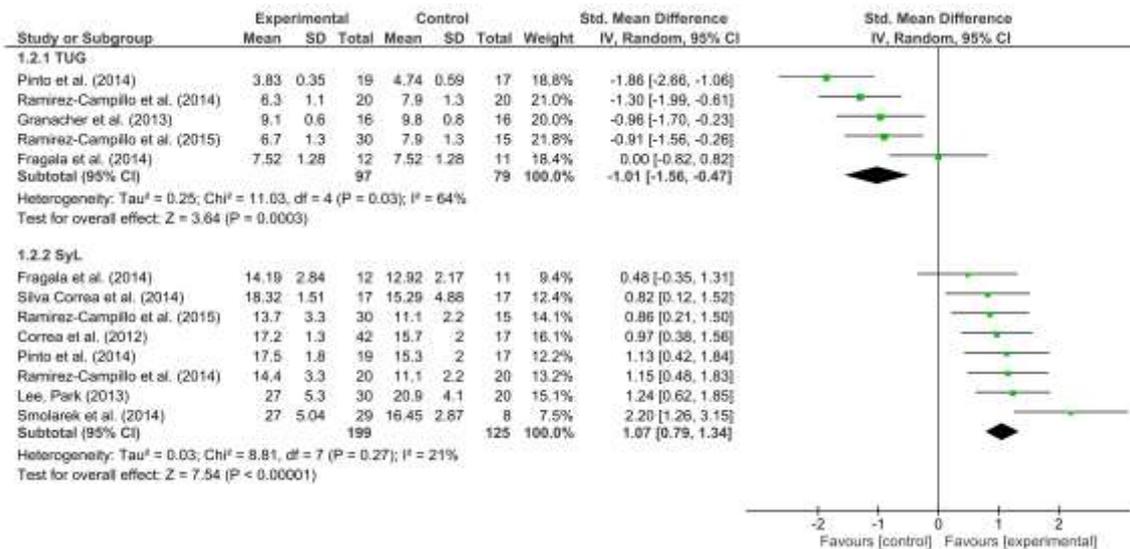
Se realizó un metanálisis para determinar el efecto del EFCD sobre las diferentes manifestaciones de la fuerza muscular, la capacidad funcional y la composición corporal. Los datos se agruparon en diferentes subgrupos según siete variables: a) grupo fuerza: FMD, FMI y potencia, prueba *8 foot up-and-go test* (8FUG), prueba sentar y levantar (30CST), MM y MG. Estas siete variables fueron analizadas dentro de tres grupos: Fuerza (RM, FMI y potencia), Capacidad Funcional (8FUG y 30CST) y Composición Corporal (MM y MG).

Para las variables del grupo Fuerza Muscular, la estimación del efecto general agrupado fue 0,95 (IC95%: 0,63; 1,26), con un efecto significativo del EFCD ( $Z= 5,93$ ;  $p<0,001$ ), como indica la figura 4. Igualmente, en sus subgrupos FMD, FMI y Potencia, también fue encontrado un efecto positivo y significativo del EFCD sobre estas variables. Los meta-análisis de los subgrupos demostraron diferencias significativas en las adaptaciones inducidas por el entrenamiento, para la FMD (SMD: 1,05; IC95%: 0,61; 1,50), la FMI (SMD: 0,87; IC95%: 0,16; 1,58) y la Potencia muscular (SMD: 0,79; IC95%: 0,16; 1,41).



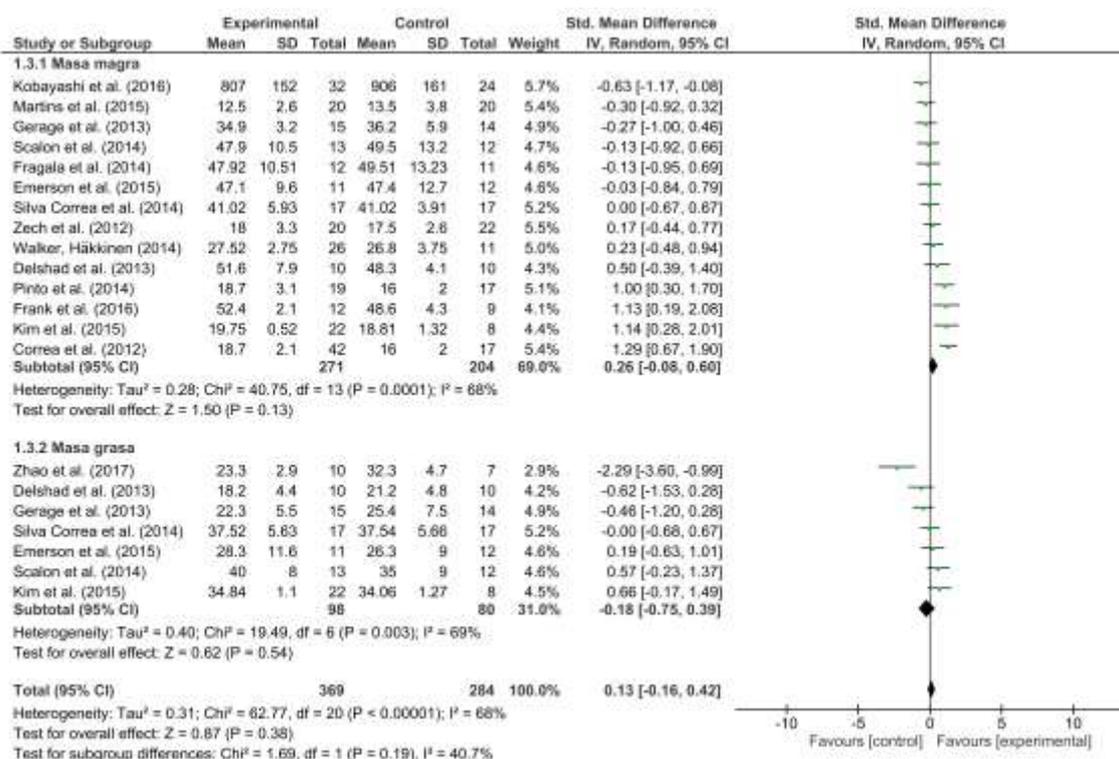
**Figura 4. Efecto del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre la fuerza máxima dinámica, la fuerza máxima isométrica y la potencia muscular en los miembros inferiores de personas mayores de 65 años.**

Para las variables del grupo Capacidad Funcional, se realizó un análisis por separado de sus dos subgrupos, 8FUG y 30CST, como muestra la figura 5. En el subgrupo 8FUG, como la unidad de medida es el tiempo en segundos, la interpretación de la gráfica debe ser que una reducción de los valores indique una mejora en el desempeño de la prueba. Así, el metanálisis indicó que el EFCD posee un efecto positivo en la reducción del tiempo de ejecución de esta prueba, con un efecto general significativo (SMD: -1,01; IC95%: -1,56; -0,47). Igualmente, para la prueba 30CST, también se observó un efecto positivo y significativo del entrenamiento sobre el número total de repeticiones ejecutadas (SMD: 1,07; IC95%: 0,79; 1,34).



**Figura 5. Efecto del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre las pruebas de capacidad funcional 8 foot up-and-go test y sentar y levantar en personas mayores de 65 años.**

Finalmente, para las variables del grupo Composición Corporal, la estimación del efecto general agrupado fue 0,13 (IC95%: -0,16; 0,42), demostrando que no existe un efecto significativo del EFCD ( $Z = 0,87$ ;  $p = 0,38$ ), como indica la figura 6. Igualmente, en los subgrupos MM (SMD: 0,26; IC95%: -0,08; 0,26) y MG (SMD: -0,18; IC95%: -0,75; 0,39), tampoco se encontró un efecto significativo del entrenamiento sobre estas variables.



**Figura 6. Efecto del entrenamiento de fuerza de corta duración sobre las variables relacionadas con la composición corporal, masa magra y masa grasa, en personas mayores de 65 años.**

El análisis de los datos aportados por estos estudios demostró fuertes efectos del EFCD sobre la FMD, FMI, potencia muscular y capacidad funcional. La heterogeneidad reportada entre los estudios en el análisis de subgrupos en la presente investigación fue causada principalmente por los diferentes métodos de evaluación empleados para las variables analizadas en cada investigación.

Durante el proceso de envejecimiento, es posible observar una clara relación entre la composición corporal y la capacidad funcional (Kalish, 2016), con deterioro de ambas a lo largo de los años. También es posible observar un deterioro de los niveles de fuerza y potencia muscular, especialmente en los miembros inferiores (Brady, Straight y Evans, 2014). Además, la composición corporal y la función muscular tienen importantes implicaciones para las caídas y fracturas en personas mayores, siendo la pérdida de masa y de fuerza

muscular los principales factores de riesgo asociados al incremento de las caídas y consecuentemente, a las fracturas en la región de la cadera (Scott et al., 2017). Sin embargo, el entrenamiento de fuerza puede frenar ese deterioro causado por el envejecimiento, así como promover ganancias de fuerza y potencia muscular, incrementos de masa muscular, asociadas a mejoras de la capacidad funcional en las personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014; Brook et al., 2016).

En este sentido, el EFCD se mostró como una estrategia eficaz para la ganancia de FMD en los miembros inferiores de personas mayores de 65 años. Por medio del metanálisis realizado fue posible observar que, para cada unidad de incremento de FMD en el grupo control, el grupo experimental aumentaba 1,05 unidades. Con tan sólo 6 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional, algunos estudios (Correa et al., 2012; Scalon et al., 2014; Emerson et al., 2015; Pinto et al., 2014) demostraron incrementos en la FMD, con tamaños de efecto entre 0,93 y 1,57. Estos incrementos en la FMD son importantes para la personas mayores especialmente porque la debilidad muscular es el principal factor de riesgo para la caídas, aumentando en 5 veces el riesgo de caída (Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Muehlbauer, Gollhofer y Granacher, 2015). Además, la FMD también está implicada en el mantenimiento de la capacidad funcional en personas mayores, siendo la fuerza muscular un fuerte predictor de limitación funcional y discapacidad (Buch et al., 2016; Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Schaap, Koster y Visser, 2013), estando asociada a 1,86 veces más chaces de deterioro en la capacidad funcional (Brady, Straight y Evans, 2014). Así, es posible pensar que la realización de un programa de EFCD puede prevenir las pérdidas funcionales, la discapacidad y el riesgo de caída, mediante sus efectos positivos sobre el incremento de la FMD.

Igualmente, el EFCD también demuestra ser eficaz en la ganancia de FMI en los miembros inferiores de personas mayores de 65 años. Con cuatro semanas de entrenamiento de fuerza explosiva (2 sesiones semanales), Kobayashi et al. (2016), demostró mejoras en la FMI en miembros inferiores de personas mayores. En la misma línea, ocho semanas de entrenamiento de fuerza tradicional, dos o tres veces a la semana, también fueron capaces de

producir incrementos en la FMI (Gurjão et al., 2012; Mejías-Peña et al., 2017; Rodríguez-Miguel et al., 2014). Por otro lado, el estudio realizado por Smoralek et al. (2014) fue el único que no encontró incrementos en la FMI tras 12 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional, dos veces a la semana. La FMI es importante para el mantenimiento de la postura y estabilidad corporal, en algunas acciones de la vida cotidiana y también en la práctica deportiva (Bellar, Marcus y Judge, 2015; Romero-Franco, Jiménez-Reyes y Montaña-Munuera, 2016). Así, un programa de EFCD podría auxiliar en la preservación de la higiene postural, en la estabilidad corporal y en algunas acciones de la vida cotidiana en las personas mayores.

La potencia muscular en los miembros inferiores de personas mayores de 65 años también aumentó en respuesta al EFCD. Para cada unidad de incremento de la potencia muscular en el grupo control, el grupo experimental demostró un aumento del 79% en comparación con el grupo control. Incrementos en la potencia muscular fueron reportados en estudios de 12 semanas de duración (Valls et al., 2014; Sayers y Gibson, 2014; Ramírez-Campillo et al., 2017; Ramírez-Campillo et al., 2014; Zech et al., 2012). Estos resultados son importantes, ya que la potencia muscular se sitúa como el mejor predictor de la autonomía funcional en personas mayores, estando fuertemente asociada con la velocidad de la marcha, el equilibrio y la funcionalidad en general, siendo la manifestación de la fuerza más importante para la realización de las actividades de la vida diaria, como subir escaleras, levantarse de una silla o desplazarse por la casa (Brady, Straight y Evans, 2014).

Sin embargo, el envejecimiento parece estar asociado con la pérdida o alteración morfológica de neuronas corticales, lo que en personas mayores de 65 años se traduce en una disminución de un 43% en el volumen de neuronas corticales (McKinnon et al., 2017). También se observa una desmielinización aparente en el sistema nervioso periférico, dando lugar a una disminución de la velocidad de conducción axonal, es decir, reduciendo la eficacia de las neuronas en la transmisión de comandos motores a los músculos (McKinnon et al., 2017). Estos cambios estructurales en las neuronas, tanto en el sistema nervioso central, como en el periférico, pueden afectar a la capacidad de transmisión y ejecución de tareas motoras, así como la potencia muscular.

Además, el proceso de envejecimiento también promueve el deterioro del mecanismo de acoplamiento, excitación-contracción y/o de otros mecanismos subcelulares responsables de generar la potencia muscular (Cartee et al., 2016). Así, el EFCD puede ser una estrategia eficaz cuando se desee incrementar la potencia muscular y consecuentemente, la autonomía funcional de las personas mayores, pudiendo frenar y revertir los efectos degenerativos del envejecimiento sobre esa manifestación de la fuerza.

La capacidad funcional puede ser definida como el potencial presentado por las personas mayores para realizar sus actividades cotidianas de forma independiente (Barbosa et al., 2014). Durante el envejecimiento, es posible observar la disminución de la capacidad funcional, principalmente debido al deterioro de las funciones físicas, como la disminución de la función de los sistemas locomotor, cardiorrespiratorio y nervioso (Gluchowski et al., 2015; Witard et al., 2016), situación que puede dificultar o impedir a las personas mayores la realización de sus actividades cotidianas.

En este estudio, fueron utilizados los datos de dos pruebas, 8FUG y 30CST, como indicadores de la capacidad funcional. El EFCD promovió la disminución del tiempo empleado para la realización del 8FUG en personas mayores de 65 años, lo que indica una mejora en la capacidad de desplazamiento con cambios de dirección. Por medio del meta-análisis realizado fue posible observar que, para cada unidad de tiempo disminuida en el 8FUG por el grupo control, el grupo experimental disminuía un 101% ese tiempo. Con tan solo seis semanas de entrenamiento de fuerza tradicional, dos veces por semana, Pinto et al. (2014), observaron una disminución del tiempo de ejecución en el 8FUG. Con el mismo tiempo de entrenamiento, Fragala et al. (2014), también observaron resultados similares. Igualmente, Granacher et al. (2013), demostraron mejoras en el desempeño en esta prueba, tras nueve semanas de entrenamiento de fuerza funcional realizado bisemanalmente. Otros dos estudios realizados por el mismo grupo de investigación (Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014) indican que el desempeño en el 8FUG también mejora tras 12 semanas de entrenamiento de fuerza a alta velocidad.

En esta línea, el EFCD también fue eficaz para mejorar el rendimiento de personas mayores de 65 años en la prueba 30CST, lo que también puede ser entendido como un indicador de mejora de la potencia muscular en los miembros inferiores de estas personas. Para cada unidad de incremento en esta prueba en el grupo control, el grupo experimental presentó un aumento del 107%. Diferentes estudios (Correa et al., 2012; Fragala et al., 2014; Pinto et al., 2014) observaron un incremento del número de acciones ejecutadas en esta prueba tras realizar 6 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional. Igualmente, estudios que emplearon 12 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional (Lee y Park, 2013; Smoralek et al., 2014) o entrenamiento de fuerza a alta velocidad (Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014) también mostraron resultados similares en personas mayores de 65 años.

Estas mejoras en el rendimiento de las pruebas de capacidad funcional, pueden indicar que el EFCD es capaz de promover un aumento de la capacidad física, en especial de las funciones neuromusculares, con reflejos sobre la mejora de la capacidad de locomoción y la funcionalidad de los miembros inferiores. Eso es especialmente importante, pues el EFCD además de impactar en la capacidad funcional puede contribuir en la disminución del riesgo de caídas, ya que la debilidad muscular y la pérdida de la capacidad funcional de los miembros inferiores son los principales factores de riesgo de caídas en personas mayores (Borde, Hortobágyi y Granacher, 2015; Muehlbauer, Gollhofer y Granacher, 2015).

El envejecimiento está asociado a cambios en la composición corporal que tienen como resultado la disminución de la MM y aumentos en la MG del tronco y en la infiltración de grasa en los tejidos y órganos (Jura, Kodak, 2016; Kalish, 2016; Zamboni et al., 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013). Estos cambios en la composición corporal producen una reducción de la autonomía funcional, así como del desarrollo de enfermedades crónicas, e incluso mortalidad prematura (Kim et al., 2016; Jura y Kozak, 2016; Brady, Straight y Evans, 2014). El entrenamiento de fuerza y la nutrición parecen ser la principal estrategia para controlar los cambios en la composición corporal ocasionados por el envejecimiento (Brook et al., 2016). Sin embargo, el EFCD no demostró resultados estadísticamente significativos (Z: 1,5; p=0,13; SMD: 0,28; IC95%: -

0,08; 060) para la ganancia de MM en personas mayores de 65 años. A pesar de que algunos estudios (Correa et al., 2012; Delshad et al., 2013; Kobayashi et al., 2016; Frank et al., 2016; Pinto et al., 2014) demostraron incrementos en la MM tras la realización de un programa de entrenamiento de corta duración, el metanálisis realizado no detectó diferencias significativas en la comparación entre los participantes del grupo control y del grupo experimental. Este resultado coincide con el meta-análisis realizado por Peterson, Sen y Gordon (2011), en el que se determinan los efectos del entrenamiento de fuerza sobre la MM de personas mayores de 50 años de ambos sexos, donde los autores encontraron que el tiempo medio para que se produzca una ganancia de 1,1 kg de MM en personas mayores de 50 años es de 20,5 semanas de entrenamiento.

En la misma línea, el EFCD tampoco fue capaz de promover reducciones significativas de la MG (Z: 0,62;  $p=0,54$ ; SMD: -0,18; IC95%: -0,75; 039) en personas mayores de 65 años. De todos los estudios analizados, el único que observó reducción de la MG tras la realización de un EFCD fue el realizado por Zhao et al. (2017), en 17 personas mayores del sexo masculino, que fueron sometidas a 12 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional, dos veces a la semana. Quizás, tal como ocurre con la MM, el tiempo de entrenamiento no sea suficiente para producir adaptaciones significativas en los adipocitos de personas mayores. Así, parece ser que los programas de EFCD no son una estrategia eficaz cuando se pretende incrementar la MM y reducir la MG, por lo que se deben emplear programas más largos de entrenamiento.

Por tanto, el meta-análisis realizado en los estudios recopilados en esta revisión indica que el EFCD tiene un efecto de moderado a grande en la FMD, FMI, potencia muscular y capacidad funcional, medida por las pruebas 8FUG y 30CST, en comparación con el grupo control. Sin embargo, esta intervención parece no tener efecto sobre la MM y la MG. Dado que el envejecimiento ocasiona un deterioro de la autonomía funcional, la implementación de intervenciones con EFCD a través de iniciativas de salud pública puede ser una estrategia eficiente para reducir el riesgo de disminución funcional y discapacidad física entre las personas mayores de 65 años.

## **2.6. Autofagia: definición, importancia, tipos, mecanismos y relación con el envejecimiento**

### 2.6.1. Definición e importancia de la autofagia

La búsqueda por la fuente de la juventud siempre ha sido un afán de la humanidad. Recientemente, el enfoque de esta búsqueda se ha centrado en los procesos de muerte celular, especialmente en la comprensión de los mecanismos moleculares que viabilizan la supervivencia y longevidad celular (Swart, Du Toit y Loos, 2016). Además, el mantenimiento de la homeostasis celular, que está relacionado con la supervivencia celular, requiere un equilibrio adecuado entre la síntesis y la degradación de componentes celulares. En organismos eucariotas, las dos principales vías de degradación de componentes celulares son el proteasoma y la autofagia (Yin, Pascual y Klionsky, 2016).

El término autofagia tiene su etimología en el griego y significa comer a uno mismo (*auto* = uno mismo; *phagos* = comer) (Lippai y Szatmári, 2017; Yin, Pascual y Klionsky, 2016). En las ciencias biomédicas este término describe vías catabólicas generales mediante procesos naturales, evolutivamente conservados y regulados de degradación de componentes celulares que permiten reciclar sistemáticamente componentes innecesarios o disfuncionales, generando un mecanismo de supervivencia celular en respuesta a distintos tipos de estímulos estresores (Lippai y Szatmári, 2017; Min et al., 2017; Jacob et al., 2017; Reggiori y Ungermann, 2017; Lin, 2017; Messer, 2017; Yin, Pascual y Klionsky, 2016).

En 1957, Sam Clark, un investigador que estaba interesado en la diferenciación celular de los riñones de ratones recién nacidos, describió, por primera vez, unos “cuerpos redondos”, que contenían en su interior estructuras lamelares y mitocondrias. En 1963, el biólogo belga Christian de Duve, ganador

del premio Nobel de Fisiología y Medicina por sus estudios sobre el lisosoma, utilizó por primera vez el término autofagia (Lin, 2017). Más recientemente, en 2016, otra vez se reconoce la importancia de este tema, cuando el japonés Yoshinori Ohsumi, gana el premio Nobel de Fisiología y Medicina por sus descubrimientos sobre los mecanismos de autofagia (Min et al., 2017). Esto pone de manifiesto la importancia de la autofagia como un proceso celular fundamental para el mantenimiento de la homeostasis y de la supervivencia celular (Lin, 2017).

A partir del descubrimiento de los genes relacionados con la autofagia (ATG) en levaduras y su posterior profundización de los estudios en diversos modelos animales y celulares, también fue posible verificar la importancia de la autofagia en diversos procesos fisiológicos incluyendo el control de la calidad celular, el mantenimiento de la homeostasis celular y tisular, la respuesta inmune innata y adaptativa, la diferenciación y desarrollo celular, además del proceso de envejecimiento celular y tisular (Yin, Pascual y Klionsky, 2016). Adicionalmente, la autofagia también está relacionada con el reciclaje de nutrientes y la eliminación de orgánulos dañados o disfuncionales, agregados proteicos y patógenos invasores (Lin, 2017).

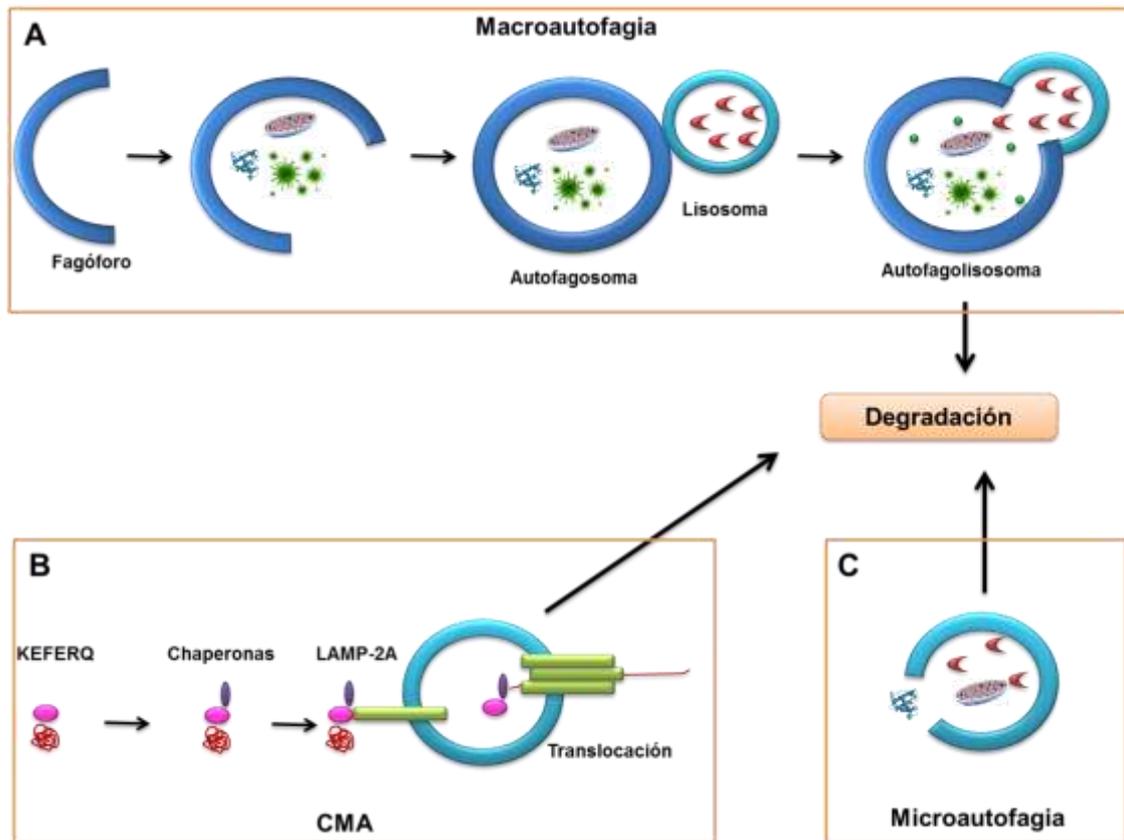
En la mayoría de las células, la autofagia está activada con la finalidad de mantener la homeostasis celular mediante el aclaramiento de orgánulos y proteínas anormales (Min et al., 2017). Así, en condiciones normales de crecimiento y disponibilidad de nutrientes, la proteína diana de la rapamicina en mamíferos (mTOR) inhibe la autofagia mediante la fosforilación de subunidades de ATG1 (Reggiori y Ungermann, 2017). Sin embargo, bajo condiciones de estrés, tales como privación la nutricional, la hipoxia, la acidosis o la exposición a fármacos, el flujo autofágico puede ser rápidamente regulado para proporcionar más nutrientes y energía a las células (Min et al., 2017). En este sentido, la autofagia actúa como una respuesta adaptativa a la adversidad ambiental, especialmente en la privación nutricional (Yin, Pascual y Klionsky, 2016).

La autofagia puede actuar de dos formas, de forma no selectiva (autofagia no selectiva), secuestrando porciones del citoplasma de manera no

específica (Reggiori y Ungermann, 2017; Min et al., 2017), por ejemplo, cuando es inducida por la privación nutricional o las perturbaciones metabólicas, la autofagia es relativamente no selectiva, pudiendo degradar cualquier parte del citoplasma indistintamente (Yin, Pascual y Klionsky, 2016). Por otro lado, la autofagia puede actuar de forma altamente selectiva (autofagia selectiva), eliminando distintas estructuras mediante la utilización de receptores de autofagia y proteínas de señalización y dependiendo de sus objetivos puede recibir diferentes denominaciones, como mitofagia (dirigida a las mitocondrias), reticulofagia (dirigida al retículo endoplásmico), ribofagia (dirigida al ribosoma), etc. (Reggiori y Ungermann, 2017; Min et al., 2017). La autofagia selectiva facilita la eliminación de estructuras disfuncionales o excesivas antes que las mismas se tornen nocivas para las células (Yin, Pascual y Klionsky, 2016).

#### 2.6.2. Tipos de autofagia y sus mecanismos de acción

Hasta el día de hoy se han detectado tres tipos primarios de autofagia en las células de organismos eucariotas, siendo la microautofagia, la autofagia mediada por chaperonas (CMA) y la macroautofagia (Min et al., 2017; Lippai y Szatmári, 2017; Jacob et al., 2017; Wu y Adamopoulos, 2017). Sus tres formas principales implican diferentes mecanismos, que son responsables del secuestro de distintas estructuras (Lippai y Szatmári, 2017). La figura 7 ilustra los tres tipos primarios de autofagia.



**Figura 7. Esquema ilustrativo de los tres tipos primarios de autofagia.** A)

La macroautofagia se denomina generalmente autofagia. En este proceso, los genes/proteínas dañados/mal formados son reclutados por el fagóforo y luego encerrados en vesículas de doble membrana llamadas autofagosomas que luego se fusionan con lisosomas para degradación. B) En la CMA, las proteínas contienen la señal de degradación KFERQ y son reclutadas por chaperonas que se unen a LAMP-2A en el lisosoma. Las proteínas después se trasladan desde el citosol a través de LAMP-2A en el lisosoma para la degradación. C) La microautofagia envuelve directamente a los componentes citoplásmicos para su degradación. Adaptado de Wu y Adamopoulos (2017).

La microautofagia es una vía de degradación lisosomal no selectiva y sin formación de autofagosomas, donde la vacuola invagina e internaliza los componentes citosólicos, con su posterior degradación (Jacob et al., 2017). La microautofagia es esencial para la supervivencia celular, cuando las mismas se encuentran bajo estrés, como durante la privación nutricional (Wu y Adamopoulos, 2017). Además, este tipo de autofagia puede ser dividido en cinco pasos secuenciales: 1) invaginación microautofágica y tubos autofágicos; 2) formación de vesículas; 3) expansión vesicular; 4) escisión vesicular; y 5)

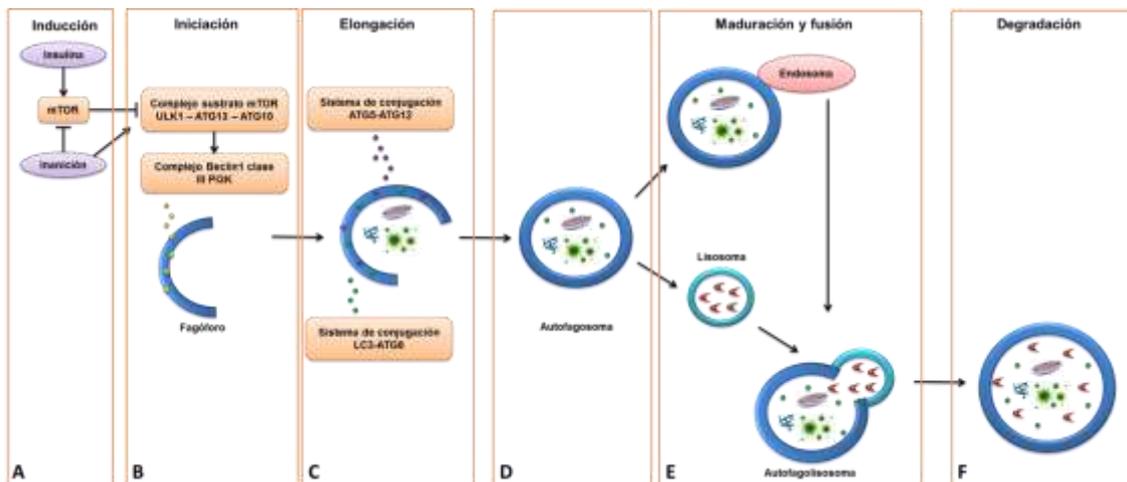
degradación vesicular. En la microautofagia, los lípidos son esenciales para el mantenimiento de la invaginación y la formación de tubos autofágicos, que son distintos de otros tipos de autofagia (Wu y Adamopoulos, 2017).

Otro tipo de autofagia es la CMA, que tiene como objetivo la degradación lisosomal de los componentes celulares. La CMA es altamente selectiva hacia un grupo de proteínas y su mecanismo de transporte de proteínas hasta los lisosomas es exclusivo, diferenciando este tipo de autofagia de los otros dos tipos (Jacob et al., 2017; Lippai y Szatmári, 2017). La CMA tampoco requiere formación de autofagosomas, pero incluye varios pasos, como: 1) reconocimiento de sustrato y orientación lisosomal; 2) unión y despliegue de sustrato; 3) translocación y degradación del sustrato (Wu y Adamopoulos, 2017). El reconocimiento del sustrato ocurre mediante la acción de la proteína de choque térmico de 70KDa (Hsp70), una chaperona que reconoce las estructuras que contienen una señal de degradación corta relacionada con el código pentapéptido KFERQ en el citosol y dirige esta estructura disfuncional hacia el lisosoma. Después, la proteína de membrana asociada a los lisosomas de tipo 2A (LAMP-2A) se une al complejo chaperona (chaperona + estructura disfuncional). Por último, la interacción entre LAMP-2A y el complejo chaperona induce la oligomerización de LAMP-2A para facilitar la translocación de las proteínas diana del citosol a los lisosomas para su degradación (Wu y Adamopoulos, 2017).

El tercer tipo de autofagia es la macroautofagia. Esta vía es la más estudiada y mejor caracterizada, generalmente siendo utilizada como sinónimo de autofagia (Min et al., 2017; Wu y Adamopoulos, 2017). La macroautofagia implica la formación de los fagóforos, de los autofagosomas y la fusión de los autofagosomas y los lisosomas para formar los autofagolisosomas para la degradación de los orgánulos (Wu y Adamopoulos, 2017), incluyendo durante este proceso varias etapas, como: 1) inducción; 2) nucleación vesicular; 3) alargamiento; 4) formación de autofagosomas; y 5) formación de autofagolisosomas (Min et al., 2017).

El fagóforo es una membrana de aislamiento que puede derivar del retículo endoplasmático o de las mitocondrias y que puede reclutar y encerrar

componentes citoplásmicos, de forma selectiva o no selectiva, para formar una vesícula de membrana de doble capa denominada autofagosoma. A su vez, el autofagosoma se fusiona con el lisosoma para formar el autofagolisosoma. Los autofagolisosomas posteriormente se dirigen a las proteínas u orgánulos potencialmente nocivos, para promover la degradación de estas estructuras y proporcionar nutrientes, energía y mejores condiciones de supervivencia celular, a partir del reciclaje de aquellos componentes potencialmente nocivos (Min et al., 2017; Lippai y Szatmári, 2017; Jacob et al., 2017; Wu y Adamopoulos, 2017). Sin embargo, la macroautofagia no sólo proporciona nutrientes para la célula, sino que también tiene una función esencial de limpieza y protección celular, mediante la eliminación de orgánulos excesivos, dañados, agregados de proteínas y microorganismos invasores, contribuyendo así a la salud y longevidad del organismo (Lippai y Szatmári, 2017). La figura 8 ilustra cada etapa del proceso de formación del autofagolisosoma.



**Figura 8. Esquema ilustrativo de la formación del autofagolisosoma.** El

proceso de formación del autofagolisosoma en mamíferos empieza por la (A) inducción, donde situaciones como el hambre o el estrés inducen la (B) iniciación, que conlleva la formación del fagóforo, por acción del complejo Beclín1/PI3K. Después, se produce la (C) elongación de la membrana de aislamiento del fagóforo, para engullir los componentes citoplásmicos, mediante la acción del sistema de conjugación ATG y LC3. La elongación promoverá la (D) formación del autofagosoma, a través de la fusión de los bordes del fagóforo, el cual es conducido por la maquinaria de dineína en los microtúbulos hacia el centro organizador de microtúbulos de manera que se aproxime a los lisosomas. A su vez, (E) la fusión del

autofagosoma y del lisosoma formará una estructura denominada autofagolisosoma, que promoverá la (F) degradación del contenido intra-autolisosomal por hidrolasas lisosomales. Adaptado de Tan et al. (2014).

Así, las células autofágicas muestran una extensa remodelación de la membrana interna, donde la absorción de porciones del citoplasma en grandes vacuolas de doble membrana permite acoplar y fusionar con lisosomas que contienen hidrolasas (Swart, Du Toit y Loos, 2016). Aunque varios orgánulos hayan sido indicados como fuentes de la membrana primaria, el origen de los autofagosomas aún no está claro (Lippai y Szatmári, 2017). Lo que se sabe es que están identificados un grupo de 16 ATG que están relacionados con la maquinaria central de la biogénesis de los autofagosomas (Reggiori y Ungermann, 2017) y que, juntamente con otras moléculas reguladoras, los ATG serán responsables por inducir la activación de la autofagia (Lin, 2017).

Aunque la autofagia inducida por estrés cobre más atención en las investigaciones, la renovación de contenidos citoplásmicos inducida por niveles basales de autofagia, incluso durante condiciones favorables de crecimiento, también es fundamental para la adecuada fisiología celular, funcionando como un mecanismo de control de calidad de la reproducción celular (Yin, Pascual y Klionsky, 2016). Adicionalmente, niveles disminuidos de autofagia basal están asociados con el acúmulo de proteínas/genes mal formados o dañados y orgánulos disfuncionales, como las mitocondrias. Estas estructuras disfuncionales están asociadas con enfermedades neurodegenerativas, algunos tipos de cáncer e inflamación sistémica (Yin, Pascual y Klionsky, 2016).

El proceso de envejecimiento está asociado a la disminución del flujo autofágico (Mejías-Peña et al., 2016). Sin embargo, el aumento del flujo autofágico puede promover el aclaramiento de las proteínas, de los genes y/o de los orgánulos disfuncionales ayudando a mejorar la función celular, prolongar la vida útil y evitar la muerte celular, sugiriendo la autofagia como un mecanismo anti-envejecimiento (Yin, Pascual y Klionsky, 2016).

En los mamíferos, la autofagia es fundamental en el proceso de desarrollo embrionario, en la supervivencia de recién nacidos y en la organogénesis (Yin, Pascual y Klionsky, 2016). Adicionalmente, este mecanismo puede conservar la disponibilidad de energía, controlar la inflamación sistémica y eliminar orgánulos dañados (Messer, 2017). Específicamente en el control de la inflamación, la autofagia es capaz de disminuir las señales proinflamatorias eliminando/degradando organismos intracelulares relacionados con la inflamación y controlando la producción y liberación de citoquinas. En este contexto, la eliminación de las mitocondrias dañadas/disfuncionales es particularmente importante, ya que ellas producen especies reactivas de oxígeno (ROS) y contribuyen a incrementar el estrés y el daño celular (Messer, 2017).

### 2.6.3. Mitocondria y envejecimiento: funciones e importancia

Las mitocondrias son las “centrales energéticas” de la célula, generando gran parte de la adenosina trifosfato (ATP) celular. Además, las mitocondrias están implicadas en el metabolismo del calcio, contribuyen a la formación intracelular de ROS y desempeñan un papel destacado en la iniciación de la apoptosis, siendo por lo tanto clave en el mantenimiento de la homeostasis celular y actuando como importantes orgánulos de señalización en diferentes tejidos (Sanz, 2016). El tamaño y el número total de mitocondrias dependen de las necesidades metabólicas, del estado de diferenciación y de las diferentes condiciones fisiológicas de la célula (Novak, 2012).

Para mantener un estado saludable, las mitocondrias regulan su biogénesis y participan en varios procesos dinámicos. Los elementos clave de estos procesos se describen en la figura 9. La biogénesis mitocondrial se define como la regulación coordinada entre la expresión génica nuclear, la importación de proteínas y la transcripción de DNA (mtDNA) (Carter, Chen y Hood, 2015). Este proceso está regulado por varios factores de transcripción, como el factor de transcripción mitocondrial A (TFAM) y la proteína 1 $\alpha$

coactivadora del receptor activado por el proliferador de peroxisomas (PGC-1 $\alpha$ ), así como a nivel post transcripcional (Palikaras y Tavernarakis, 2014). PGC-1 $\alpha$  también está involucrada en otras funciones tales como el control del número de copias del genoma mitocondrial, la regulación de la dinámica mitocondrial y la modulación de la fosforilación oxidativa (Gospillou et al., 2014). Por otra parte, las mitocondrias son altamente dinámicas y sufren fusión (la unión de dos orgánulos en uno) y fisión (la división de un solo orgánulo en dos) (Mishra y Chan, 2016). El proceso de fusión implica tres GTPasas: mitofusina (Mfn) 1 y Mfn2, que median la fusión de la membrana mitocondrial externa (OMM), y la proteína de atrofia óptica 1 (OPA1), que regula la fusión de la membrana mitocondrial interna (IMM). Por otro lado, el proceso de fisión está mediada por la GTPasa dinamina relacionada con la proteína 1 (Drp1) y genera una porción polarizada y una despolarizada en la mitocondria (Hamacher-Brady y Brady, 2016). Las mitocondrias también sufren otros procesos dinámicos, como el transporte (movimiento dirigido dentro de una célula) y la degradación (destrucción dirigida a través de la vía mitofágica). Todos estos procesos son esenciales para mantener una población mitocondrial saludable y funcional (Mishra y Chan, 2016).

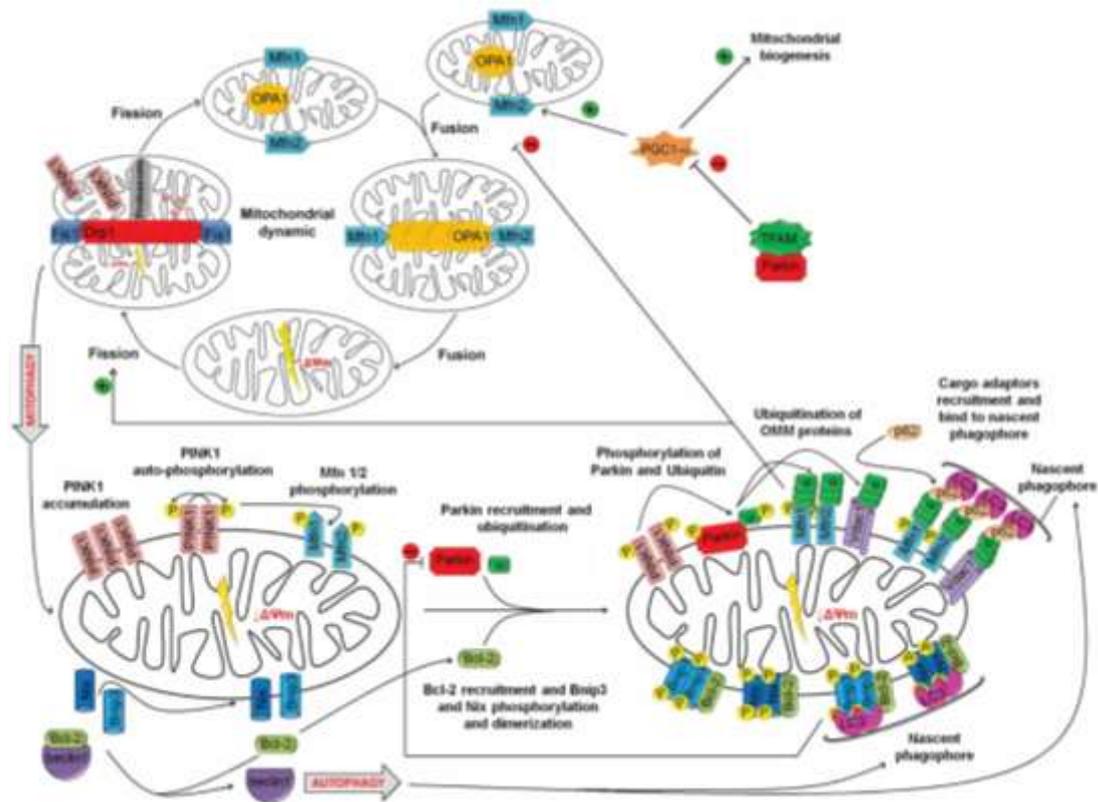
El mantenimiento de la integridad estructural mitocondrial, la biogénesis y la función son esenciales para las células, ya que la disfunción mitocondrial puede inducir trastornos en el metabolismo energético, aumentar la producción de las ROS y en consecuencia, desencadenar mecanismos de muerte celular apoptótica (Sanz, 2016). Por otra parte, durante las últimas décadas, múltiples líneas de investigación en animales de experimentación y seres humanos han verificado que el deterioro de la función mitocondrial puede contribuir al proceso de envejecimiento, así como las enfermedades asociadas con la edad (Kauppila, Kauppila y Larsson, 2017; Schrepfer y Scorrano, 2016). De hecho, se ha demostrado que la disminución del funcionamiento mitocondrial es una característica del envejecimiento, posiblemente debido al papel central de las mitocondrias en el metabolismo y en la función celular. Por lo tanto, la potencial toxicidad de las ROS procedentes de la cadena respiratoria mitocondrial (mtROS), llevó a la formulación de la teoría del envejecimiento inducida por el estrés oxidativo, lo que sugiere que la acumulación de daño oxidativo en las

macromoléculas es un punto importante en el proceso de envejecimiento. El mtDNA tiene dos características que lo convierten en un objetivo clave de mtROS, por un lado, su proximidad a la cadena respiratoria y por otro, la falta de histonas protectoras. El mtDNA dañado altera la cadena respiratoria, aumentando la generación de radicales libres y desencadenando un ciclo vicioso. Estos cambios resultan en la disfunción orgánica y el fenotipo de envejecimiento (Poulose y Raju, 2015). Recientemente, sin embargo, en contraste con la teoría original que indica el daño oxidativo como causa de las mutaciones en el mtDNA y los correspondientes descensos en la función mitocondrial, existen datos sólidos que argumentan que la mayoría de las mutaciones en el mtDNA de los mamíferos se originan como errores de replicación producidos por la DNA polimerasa mitocondrial (Kauppila, Kauppila y Larsson, 2017; Payne y Chinnery, 2015).

Además, el control de la calidad de las proteínas, o proteostasis, desempeña un papel importante en la acumulación de proteínas mal formadas o dañadas y en la disfunción mitocondrial relacionada con el envejecimiento. Para resolver este problema, y promover la supervivencia celular y la longevidad del organismo, las células activan una respuesta transcripcional conocida como respuesta a las proteínas desplegadas mitocondrial (mtUPR) (Jensen y Jasper, 2014). En respuesta a la acumulación de proteínas desplegadas o sistema de fosforilación oxidativa disfuncional (OXPHOS), las células activan la mtUPR para recuperar la función mitocondrial mediante la estabilización del medio plegable de la proteína mitocondrial y aumento de una fuente citosólica de producción de ATP (Tian, Merkwirth y Dillin, 2016; Nargund et al., 2015). Además, para compensar la reducción de la actividad del OXPHOS, la mtUPR puede inducir la biogénesis mitocondrial (Tian, Merkwirth y Dillin, 2016). Finalmente, si a pesar de la activación de la mtUPR, la célula no puede mantener un potencial de membrana mitocondrial ( $\Delta\Psi_m$ ), las mitocondrias se dirigen a la degradación por las vías de la mitofagia (Pellegrino, Nargund y Haynes, 2013).

En el envejecimiento, la masa del músculo esquelético disminuye a partir de mediados de la vida en adelante. Además, también se reducen la capacidad funcional de la mitocondria y la densidad mitocondrial (Johannsen et al., 2012;

Conley Jubrias y Esselman, 2000). Sin embargo, no está claro si estos cambios son una consecuencia directa del envejecimiento per se, o si se deben a la inactividad. De hecho, es posible observar una mejora significativa en la función mitocondrial y un aumento de la expresión de PGC-1 $\alpha$  en personas mayores entrenadas (Konopka et al., 2014; Broskey et al., 2014). La expresión de las mutaciones deletéreas del mtDNA dentro de las células parece ser también controlada por el equilibrio entre la fusión y la fisión mitocondrial. Mientras que la fusión puede permitir la "dilución" de especies mutantes mtDNA, reduciendo el efecto funcional, la fisión puede conducir a la eliminación de mitocondrias aberrantes a través de la mitofagia selectiva (Payne y Chinnery, 2015). Por lo tanto, las mitocondrias polarizadas pueden ser direccionadas para el proceso de fusión y las mitocondrias despolarizadas son direccionadas a la mitofagia. De esta manera, la mitofagia es promovida e inhibida por la fisión y la fusión, respectivamente (Hamacher-Brady y Brady, 2016). Además, la dinámica mitocondrial también regula la mtUPR y la biogénesis mitocondrial, ya que la sobreexpresión de Mfn2 causa un aumento del potencial de membrana mitocondrial, la oxidación de la glucosa y el aumento de la expresión de los complejos I, IV y V de las subunidades de codificación nuclear del OXPHOS, mientras que la depleción de Mfn2 reprime la expresión de los complejos I, II, III y V. Además, PGC-1 $\alpha$  promueve la expresión de Mfn2 (Schrepfer y Scorrano, 2016). Finalmente, el equilibrio entre la biogénesis y la degradación juega un papel central en la regulación de la masa mitocondrial total. Así, la maquinaria mitofágica parece ser clave en la eliminación del exceso de mitocondrias o de las mitocondrias disfuncionales (Mishra y Chan, 2016). Por lo tanto, estos mecanismos de destrucción celular se activan con el fin de preservar la salud y el buen funcionamiento de los tejidos, ya que el aumento del estrés oxidativo en los tejidos podría causar daño al DNA y mutaciones que aceleran el envejecimiento del tejido y la disminución de su longevidad.



**Figura 9. Biogénesis y dinámica mitocondrial y los procesos mitofágicos.**

Extraído de Moreira et al. (2017). La maquinaria que regula la dinámica morfológica mitocondrial puede controlar la iniciación de la mitofagia, de modo que esta es inhibida por el proceso de fusión, mediado por Mfn1/2 y OPA1, y promovida por el proceso de fisión, mediado por Drp1. El proceso de fisión genera mitocondrias polarizadas, que son conducidas al proceso de fusión, mientras las mitocondrias despolarizadas, son conducidas a las vías de mitofagia. En las mitocondrias polarizadas, PINK es importada para dentro de la IMM y degradada en el proteasoma. En las mitocondrias despolarizadas, PINK1 se acumula en la OMM. Allí, PINK1 recluta Parkin1 del citosol, mediante la fosforilación de Mfn1 y Mfn2, la fosforilación y la ubiquitinación de Parkin1. Luego, Parkin1 ubiquitina proteínas de la OMM, como VDAC1, que reclutan el p62/SQSTM1, un receptor de la vía de autofagia. Este receptor se une simultáneamente a la LC3 localizada en el fagóforo nascente. Sin embargo, la biogénesis mitocondrial puede promover el proceso de fusión, bloqueando la mitofagia, por medio de PGC-1α, que estimula la expresión de Mfn2. Ya la mitofagia puede inhibir la biogénesis mitocondrial vía Parkin1, cuya asociación con TFAM inhibe la expresión de PGC-1α. Por otro lado, tras su expresión, Bnip3 y NIX se unen a Bcl-2, interrumpiendo la interacción beclin1/Bcl-2, de manera que beclin1 puede inducir la iniciación de la autofagia. Además, Bnip3 y NIX son fosforilados y forman homodímeros que se integran en la OMM y a continuación, se unen a LC3. En ambos casos, el enlace con LC3 direcciona la mitocondria a la autofagia.

#### 2.6.4. Vías de la mitofagia: principales mecanismos

Debido a que las mitocondrias están involucradas, tanto en el metabolismo adaptativo como en la supervivencia en respuesta al estrés celular, es necesario mantener un buen funcionamiento mitocondrial mediante el control de calidad mitocondrial (Payne y Chinnery, 2015). Recientemente, la mitofagia ha ganado importancia porque el daño acumulado en la mitocondria puede resultar en un gran número de consecuencias celulares. Este proceso de eliminación de mitocondrias disfuncionales se produce por dos vías principales, la mitofagia inducida por daños y la mitofagia inducida por el desarrollo (Novak, 2012). La mitofagia no sólo elimina las mitocondrias disfuncionales, sino que también participa en la respuesta adaptativa a la privación de nutrientes, la hipoxia o las señales del desarrollo, promoviendo una reducción en la masa mitocondrial total (Springer y Macleod, 2016).

La mitofagia inducida por daños, tiene la función de eliminar las mitocondrias dañadas o defectuosas, con el objetivo de preservar las células y los tejidos de posibles problemas causados por estos orgánulos disfuncionales. Está impulsada por dos proteínas principales: la quinasa putativa 1 inducida por PTEN (PINK1), que puede detectar el estado de polarización de la membrana mitocondrial, y la proteína ligasa a la ubiquitina E3 (Parkin1) (Figura 1). En condiciones normales, donde las mitocondrias están polarizadas, PINK1 se mantiene en bajos niveles basales. Por eso, PINK1 es importada para dentro de la IMM y es degradada por el proteasoma, combinada con la proteína de tipo romboide asociada a presenilinas (PARL) (Hamacher-Brady y Brady, 2016). Sin embargo, en mitocondrias dañadas/defectuosas, que están despolarizadas, este proceso es inactivado ya que  $\Delta\Psi_m$  es insuficiente para transferir PINK1 al interior de la IMM, acumulándose en la OMM (Eiyama y Okamoto, 2015; Ding y Yin, 2012). Allí, algunas proteínas mitocondriales son fosforiladas por PINK1, lo que resulta en el reclutamiento de receptores de autofagia que se unen al autofagosoma a través de LC3 y posteriormente, al lisosoma. Por lo tanto, las mitocondrias se degradan por autofagolisosomas (Springer y Macleod, 2016). Para amplificar esta señal, PINK1 recluta Parkin1 del citosol mediante fosforilación de Mnf1 y Mnf2. Además, PINK1 promueve la

fosforilación y ubiquitinación de Parkin1, que activa Parkin1 E3 ligase y facilita su desplazamiento hasta la OMM (Hamacher-Brady y Brady, 2016).

Una vez en la OMM, Parkin1 ubiquitina proteínas de la OMM, además de ubiquitinarse (Durcan et al., 2014). En primer lugar, Parkin1 puede desencadenar la ubiquitinación de Mfn1 y Mfn2, la prevención de la fusión de estos orgánulos y trabajar como un mecanismo de aislamiento de las mitocondrias dañadas, para su posterior secuestro y degradación por autofagia selectiva (Gomes y Scorrano, 2013). Entonces, Parkin1 ubiquitina las proteínas OMM, tales como el canal aniónico 1 dependiente del voltaje (VDAC), generando cadenas de poliubiquitina mediante Lys27, de manera que recluta receptores autofágicos que contienen CD3 (LIR), como la proteína del secuestrosoma 1 (p62/SQSTM1), que se une simultáneamente a la cadena ligera 3 de la proteína 1 asociada a microtúbulos (LC3), señalando las mitocondrias que deben ser eliminadas (Hamacher-Brady y Brady, 2016; Novak, 2012). Además, Parkin1 regula la biogénesis mitocondrial por medio de su asociación con TFAM, que inhibe la expresión de PGC-1 $\alpha$  (Palikaras y Tavernarakis, 2014).

La mitofagia inducida por el proceso de desarrollo tiene la función de eliminación programada del exceso de mitocondrias (Novak, 2012). Este tipo de mitofagia está impulsada principalmente por dos proteínas pro-apoptóticas, la Bcl-2/adenovirus E1B que interactúa con la proteína 3 (Bnip3) y la proteína X semejante a BNIP3 (NIX o Bnip3L), que inducen mitofagia por medio de varios mecanismos potenciales (Ney, 2015). Sin embargo, la mitofagia mediada por Bnip3/NIX es diferente de la vía PINK1/Parkin1, ya que las proteínas PINK1 y Parkin1 no pueden unirse directamente a los receptores de los autofagosomas, mientras que Bnip3 y NIX enlazan directamente en los componentes de la maquinaria autofágica (Figura 1) (Matsuda, 2016).

Bnip3 puede inducir la autofagia por medio de varios mecanismos, incluyendo la despolarización mitocondrial, la apertura del poro de permeabilidad transitoria mitocondrial (MPTP) o la interferencia en la maquinaria de fisión/fusión (Gottlieb y Carreira, 2010). La fosforilación regula la actividad mitofágica de Bnip3. Esta fosforilación promueve la unión a LC3II y al

acelerador de ATPasa asociado a Golgi de 16 kDa (GATE-16), y la fosforilación del residuo de serina 24 aumentando la afinidad por ellos. Por otra parte, la fosforilación en los residuos en su C-terminal, adyacente al dominio transmembrana, disminuye el daño mitocondrial generado por Bnip3 e inhibe la muerte celular, pero no bloquea la autofagia/mitofagia. Además, Bnip3 aumenta el desplazamiento de Drp1 a las mitocondrias (Liu y Frazier, 2015).

NIX es requerida para la mitofagia programada durante la maduración de los reticulocitos, que incluye la eliminación de orgánulos de membrana, como las mitocondrias, a través de un proceso relacionado con la autofagia, con la principal diferencia de que el contenido de la vacuola autofágica no es reciclado, pero eliminado por exocitosis (Gottlieb y Carreira, 2010). Entre sus posibles mecanismos de inducción de la mitofagia está la interacción con LC3. LC3 interactúa con la proteína asociada al receptor del ácido gamma-aminobutírico (GABARAP), para formar el complejo LC3/GABARAP, y mediar la movilización del autofagosoma a las mitocondrias que deben ser eliminadas (Hamacher-Brady y Brady, 2016; Gomes y Scorrano, 2013). Además, NIX puede interactuar con la proteína codificada por el gen BECN1 (Beclin1) en el complejo Beclin1/Bcl2, formado por Beclin1 y un miembro de la familia de proteínas 2 del linfoma de células  $\beta$  (Bcl-2), para liberar Beclin1 y así, inducir la autofagia (Ney, 2015; Novak, 2012).

Otros receptores de mitofagia localizados en la OMM regulados por fosforilación son la proteína que contiene el dominio 1 de FUN14 (FUNDC1) y la proteína 13 semejante a Bcl-2 (Bcl2-L-13 o Bcl-Rambo), que se localizan en la OMM y promueven la mitofagia mediante la unión directa a los componentes de la maquinaria autofágica (Matsuda, 2016). Además de los receptores de las proteínas de mitofagia, los lípidos localizados en la OMM como la ceramida, un esfingolípido, o cardiolipina, un fosfolípido dimérico, pueden accionar la maquinaria mitofágica, vinculándose directamente a LC3 (Ploumi, Daskalaki y Tavernarakis, 2017; Hamacher-Brady y Brady, 2016).

### 2.6.5. Principales cambios de la mitofagia en el envejecimiento

El mantenimiento adecuado de la cantidad y calidad mitocondriales está estrictamente relacionado con la conservación de una concentración adecuada de varias proteínas, como PGC-1 $\alpha$ , TFAM, OPA1, Drp1, PINK1, Parkin1, VDAC1, Bnip3 y NIX, que participan en la biogénesis y la dinámica mitocondrial y en el proceso de mitofagia. Sin embargo, las alteraciones orgánicas características del envejecimiento pueden modificar la concentración de estas proteínas, desestabilizando sus funciones (Tabla 4).

Algunos estudios que relacionan la autofagia y/o función mitocondrial con el proceso de envejecimiento muestran que los resultados sobre la influencia de este proceso pueden diferir (Mejías-Peña et al., 2016; Joseph et al., 2013; O'Leary et al., 2013; Gaugler et al., 2011). Específicamente, en relación con las proteínas implicadas en la biogénesis, la mayoría de los estudios encontraron una disminución de la expresión en el ácido ribonucleico mensajero (mRNA) y de la expresión proteica de PGC-1 $\alpha$ , el principal regulador de la biogénesis mitocondrial en el músculo de humanos y roedores de edad avanzada (Gioscia-Ryan et al., 2016; Kang et al., 2013; Picca et al., 2013b; Joseph et al., 2012; Koltai et al., 2012; Safdar et al., 2010; Viña et al., 2009; Lanza et al., 2008; Chabi et al., 2008). Estos resultados indican que la reducción de la biogénesis mitocondrial observada durante el envejecimiento puede ser debido a la falta de respuesta de PGC-1 $\alpha$  a diferentes estímulos. De hecho, las ratas envejecidas se comportan como ratones knock-out para PGC-1 $\alpha$  (Derbré et al., 2012). Por otro lado, TFAM, otro factor de transcripción que regula la síntesis mitocondrial, parece estar aumentado en el músculo y en el cerebro de ratas viejas y disminuido en el hígado o en el músculo de ratas muy viejas (Picca et al., 2014; Picca et al., 2013a; Koltai et al., 2012; Chabi et al., 2008; Dinardo et al., 2003). En los seres humanos, TFAM parece disminuir o no cambiar significativamente en el músculo esquelético (Bori et al., 2012; Lanza et al., 2008). Esos resultados parecen indicar que varios cambios mitocondriales asociados con el envejecimiento, que son específicos en cada tejido, podrían deberse a una modulación fina de la unión de TFAM al mtDNA.

**Tabla 4. Efectos del envejecimiento sobre las proteínas mitocondriales.**

Referencia	Tejido	Muestra	Comparación	Resultados
Bori et al. (2012)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	NS: PGC1 $\alpha$ ; TFAM; Fis1; Mfn1
Capitanio et al. (2016a)	Corazón	Ratas	Jóvenes, adultos mayores y ancianos	(↓): Bnip3; (Drp1) Dlp1; Mfn2 (↑): Mfn2
Capitanio et al. (2016b)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	(↓) (G): Drp1; Fis1; (T): Pink1; Vdac1 (↑) (G): Opa1; Mfn1; Vdac1; (T): Opa1; Mfn1; Drp1; Fis1 NS (G): Pink1
Chabi et al. (2008)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	(↓) (S)(P): PGC1 $\alpha$ (↑) (S)(P): TFAM (↑): mRNA y proteína TFAM
Dinardo et al. (2003)	Cerebro, corazón, riñón, hígado	Ratas	Jóvenes / Mayores	(↑): mRNA y proteína TFAM
Distefano et al. (2017)	Músculo	Humanos	Jóvenes, media edad y mayores	NS: Opa1; Mfn2; Fis1; Drp1; Beclin1; Bnip3
Gioscia-Ryan et al. (2016)	Arteria carótida	Ratones	Jóvenes / Mayores	(↓): PGC1 $\alpha$ ; Mfn1 (↑): Fis1
Gram et al. (2014)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	NS: Vdac1
Joseph et al. (2012)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	(↓): PGC1 $\alpha$ ; Opa1 NS: Mfn2; Drp1
Joseph et al. (2013)	Músculo	Ratones	Jóvenes / Mayores	(↑): Mfn1; Mfn2 NS: PGC1 $\alpha$ ; Opa1; Drp1
Kang et al. (2013)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	(↓): mRNA PGC1 $\alpha$
Kim et al. (2003)	Cultura de células	Humanos	Jóvenes / Mayores	(↑): Bnip3
Knuppertz y Osiewacz (2016)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	NS (mRNA): PGC1 $\alpha$ ; PGC1 $\alpha$ 4 NS (proteína): Parkin; PINK1; VDAC1; Bnip3 (↑): NIX
Ko et al. (2016)	Músculo	Ratones	Jóvenes / Mayores	(↓): PGC1 $\alpha$
Koltai et al. (2012)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	(↑): TFAM; Fis1; Mfn1 NS: PGC1 $\alpha$ ; Mfn1; Mfn2; Fis1
Konopka et al. (2014)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	NS: PGC1 $\alpha$ ; Mfn1; Mfn2; Fis1
Lanza et al. (2008)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	(↓): PGC1 $\alpha$ ; TFAM
Leduc-Gaudet et al. (2015)	Músculo	Ratones	Jóvenes / Mayores	(↑): Opa1; Mfn1; Mfn2/Drp1 (↓): Drp1 NS: Mfn2
Niemann et al. (2017)	Hígado	Ratones	3,6,9,12 and 18 meses	NS: Opa1; Fis1 (↓): PINK1; Mfn1; Mfn2
O'Leary et al. (2013)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	NS: Drp1 (↑): Parkin; Fis1; Opa1; Mfn2
Picca et al. (2013a)	Cerebro	Ratas	Jóvenes / Mayores	(↑) (26 mo vs. Y): TFAM
Picca et al. (2013b)	Hígado	Ratas	Media edad, mayores (18m) y ancianos (28m)	(↓) (18/28 vs. MA): TFAM (↓) (28 vs. MA): PGC1 $\alpha$
Picca et al. (2014)	Cerebro	Ratas	Media edad, mayores (18m) y ancianos (28m)	Cerebro (↑) (26 vs 6): Tfam
Picca et al. (2014)	Músculo	Ratas	Media edad, mayores (18m) y ancianos (28m)	Músculo (↓) (26 vs. 6): Tfam
Picca et al. (2014)	Hígado	Ratas	Media edad, mayores (18m) y ancianos (28m)	Hígado (↓) (28 vs. 18): Tfam
Safdar et al. (2010)	Músculo	Humanos	Jóvenes, mayores sedentarios y mayores activos	(↓): PGC1 $\alpha$ NS: PGC1 $\alpha$
Sebastián et al. (2016)	Músculo	Ratones	Jóvenes / Mayores	(↑): Bnip3 (↓): Mfn2
Sgarbi et al. (2014)	Cultura de células	Human	Jóvenes, mayores y ancianos	(↑) (O vs. Y): Drp1 (↑) (O vs. LLI): Drp1
Stauch, Purnell y Fox (2014)	Cerebro	Ratones	Jóvenes, media edad y mayores	5 ↑ 12 ↓ 24 m: Drp1 5 ↓ 12 ↑ 24 m: Mfn1 5 ↓ 12 ↑ 24 m: Opa1
Viña et al. (2012)	Corazón	Human	Jóvenes / Mayores	(↓): PGC1 $\alpha$
Zampieri et al. (2015)	Músculo	Humanos	Jóvenes, mayores sedentarios y mayores activos	↑ (J vs. MS): Bnip3 NS (J vs MA): Bnip3 (↑): PGC1 $\alpha$

NS: sin alteración significativa.

OPA1 se encuentra en la IMM y regula la fusión mitocondrial y la estructura de la cresta. Además, OPA1 puede controlar la mitofagia promoviendo la estabilización de las crestas mitocondriales que, a su vez, actúan contra la disfunción mitocondrial y la producción excesiva de ROS. Por lo tanto, una mayor expresión de esta proteína indica un aumento en la fusión mitocondrial y una disminución de mitofagia (Ding y Yin, 2012). La mayoría de las investigaciones parecen indicar un aumento de esta proteína en el músculo y el cerebro de roedores de edad avanzada (Capitanio et al., 2016a; Leduc-Gaudet et al., 2015; Stauch, Purnell y Fox, 2014; O'Leary et al., 2013). OPA-1 actúa como un factor de fusión mitocondrial, tal vez por la interacción con Mfn u otros factores de fusión de la OMM (Bossy-Wetzl et al., 2003). En esta línea, Mfn1 y Mfn2 también se incrementan en los ratones y los músculos de rata durante la senescencia (Capitanio et al., 2016a; Joseph et al., 2013; O'Leary et al., 2013; Koltai et al., 2012). Sin embargo, otros estudios señalan una ausencia de cambios o incluso disminuciones en estas proteínas responsables de la fusión mitocondrial (Niemann et al., 2017; Distefano et al., 2017; Gioscia-Ryan et al., 2016; Leduc-Gaudet et al., 2015; Konopka et al., 2014; Joseph et al., 2012; Bori et al., 2012). Por otro lado, y como se mencionó anteriormente, la mitofagia es promovida por la fisión (Hamacher-Brady y Brady, 2016). La mayoría de los autores han demostrado una disminución en los niveles de Drp1 en el corazón, en el cerebro y en el músculo de roedores viejos (Capitanio et al., 2016a; Stauch, Purnell y Fox, 2016; Capitanio et al., 2016b). Por otra parte, la relación entre Mfn2/Drp1, un índice del equilibrio entre la fusión y los procesos de fisión, se incrementó significativamente en el músculo esquelético atrofiado de ratones de edad avanzada (Leduc-Gaudet et al., 2015). Estos resultados refuerzan la posibilidad de que OPA1 podría actuar como un inhibidor de la fisión mitocondrial (Bossy-Wetzl et al., 2003). Sin embargo, los resultados sobre el papel de la proteína de fisión mitocondrial 1 (Fis1) en el proceso de envejecimiento no son concluyentes (Niemann et al., 2017; Distefano et al., 2017; Gioscia-Ryan et al., 2016; Capitanio et al., 2016a; Capitanio et al., 2016b; Konopka et al., 2014; O'Leary et al., 2013; Koltai et al., 2012; Bori et al., 2012).

En cuanto a PINK1 y Parkin1, ambos juegan un papel clave como un mecanismo de mantenimiento de la integridad celular y la activación de la mitofagia (Knuppertz y Osiewacz, 2016). La expresión de PINK1 parece estar disminuida en los hepatocitos y en el tejido hepático de ratones durante 18 meses de vida (Niemann et al., 2017), pero en muestras de músculo humano y de ratas no se han encontrado cambios significativos asociados con el envejecimiento (Capitanio et al., 2016a; Ogborn et al., 2015). Otros estudios indican un aumento de los niveles de Parkin1 en el músculo de ratas viejas, lo que podría ser consecuencia de la acumulación de lipofuscina dentro de los lisosomas, resultando en una acumulación de desechos celulares (O'Leary et al., 2013). Por otra parte, la desregulación de la dinámica mitocondrial con el envejecimiento conduce a la acumulación de mitocondrias disfuncionales, lo que podría dar lugar al reclutamiento de Parkin1 con el fin de controlar la cantidad y la calidad mitocondrial (Scarffe et al., 2014).

VDAC1 determina la permeabilidad y la conductancia de la OMM y juega un papel importante como modulador de los MPTP (Ding y Yin, 2012). Se ha demostrado que el nivel de VDAC1 está significativamente disminuido en las mitocondrias aisladas del cerebro de ratas viejas (Krestinina et al., 2015). El menor contenido de proteínas podría estar relacionado con los cambios en la susceptibilidad mitocondrial a la sobrecarga de  $Ca^{2+}$  y en la apertura de los MPTP que se observa con el envejecimiento (Krestinina et al., 2015). El mismo resultado se encontró en el músculo tríceps de ratas viejas (Capitanio et al., 2016a). Sin embargo, otros estudios señalan que, aparentemente, el envejecimiento no disminuye la expresión de esta proteína en los músculos humanos cuando son comparadas personas jóvenes y mayores (Ogborn et al., 2015; Gram et al., 2014).

La literatura no parece ser muy concluyente sobre el efecto del envejecimiento sobre la expresión de Bnip3. Algunos estudios han encontrado que esta proteína puede aumentar en el músculo de los ancianos sedentarios (Sebastián et al., 2016; Zampieri et al., 2015). Una posible explicación puede ser que la expresión de Bnip3 compensa la pérdida de la capacidad autofágica y minimiza el daño mitocondrial (Sebastián et al., 2016). En cambio, Bnip3 se redujo en el corazón de las ratas de edad avanzada (Capitanio et al., 2016b) o

incluso se mantuvo sin cambios en el músculo de personas mayores (Distefano et al., 2017; Ogborn et al., 2015).

El efecto del envejecimiento sobre NIX y posteriormente sobre la autofagia y la depuración mitocondrial en los músculos esqueléticos apenas se conocen. Se ha informado de que la expresión de NIX aumenta en los músculos esqueléticos de los ratones de edad avanzada (Ko et al., 2016). Esta observación, aunque coherente con la investigación que muestra un aumento de los marcadores de autofagia en los músculos envejecidos (O'Leary et al., 2013), contrasta con otros autores que han informado que el envejecimiento está asociado a la disminución de la mitofagia (Palikaras, Lionaki y Tavernarakis, 2015; Sgarbi et al., 2014). Quizás, la explicación para esta discrepancia puede ser las edades extremas (3-5 meses de edad versus 22-24 meses de edad) de los ratones utilizados en el estudio de Ko et al. (2016). Teniendo en cuenta estos datos, es posible inferir que el incremento tanto de Bnip3 como de NIX, asociado al proceso de envejecimiento, puede indicar un fallo en el mecanismo de mitofagia en el que están implicados. Posiblemente, este hecho induce la acumulación de Bnip3 y NIX, impidiendo que desempeñen su función en el proceso de mitofagia.

Los marcadores de autofagia Beclin1 y LC3 (LC3II o LC3II/I) también parecen estar alterados en el proceso de envejecimiento. Así, se observa disminución de los niveles de Beclin1 en el músculo humano y de ratones (Distefano et al., 2017; Joseph et al., 2013) y en las células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de las personas mayores (Mejías-Peña et al., 2016). Sin embargo, otros estudios en tejido muscular de humanos y de ratas no mostraron ningún cambio (Ogborn et al., 2015; Tanner et al., 2015; O'Leary et al., 2013). Estas diferencias podrían ser debidas al tipo de tejido, como se observa en músculos gastrocnemios y tríceps sural de ratas (Capitanio et al., 2016a). También se ha demostrado que LC3II o LC3II/I están aumentados en el músculo de ratones de edad avanzada (Sebastián et al., 2016), mientras que otros estudios han descrito que no hay cambios en este mismo tejido de hombres y ratas de edad avanzada (Distefano et al., 2017; O'Leary et al., 2013). Por otro lado, los resultados anteriores de nuestro grupo de investigación mostraron que la relación LC3II/I fue notablemente menor en las

PBMC de personas mayores, en comparación con un grupo de jóvenes (Mejías-Peña et al., 2016). Un fenómeno similar también ha sido observado por otros autores cuando se estudió el músculo esquelético de jóvenes y adultos mayores (Tanner et al., 2015).

En general, aunque se ha observado que el envejecimiento se asocia con la disminución de la función mitocondrial, la acumulación de mitocondrias anormales y la disminución de la capacidad mitofágica del organismo, los estudios analizados no muestran un consenso en relación con la mayoría de las proteínas implicadas en este proceso. Corresponde a la investigación futura determinar con mayor precisión los mecanismos de interacción entre el envejecimiento y las funciones mitocondriales, así como analizar los posibles factores que se supone que influyen en este proceso, como el sexo, el patrón nutricional o el nivel habitual de actividad física.

#### 2.6.6. Mitofagia y ejercicio: influencia y posibles consecuencias

El ejercicio físico se ha propuesto como un tratamiento no farmacológico contra diferentes enfermedades para personas de todas las edades (Haskell et al., 2007). Además, se sugiere que la práctica del ejercicio podría promover un aumento de la capacidad mitofágica (Carter, Chen y Hood, 2015) y producir efectos en el ciclo de vida mitocondrial (Tabla 5).

**Tabla 5. Efectos de la práctica de ejercicio físico sobre las proteínas mitocondriales durante el envejecimiento.**

Referencia	Tejido	Muestra	Comparación	Entrenamiento	Resultados
Bori et al. (2012)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores (sedentarios y activos)	Una sesión de carrera en tapiz rodante por 45 min a 70-75%VO <sub>2max</sub> , más carrera hasta el agotamiento a 90% VO <sub>2max</sub>	(↓):Fis1; Mfn1 NS:PGC1α; TFAM
Broskey et al. (2014)	Músculo	Humanos	Mayores sedentarios y activos	16 semanas de ejercicio aeróbico (bicicleta, caminata, carrera), 3 veces/semana a 75-80% FC.	(↑): PGC1α, TFAM NS: PGC1b
Cobley et al. (2012)	Músculo	Humanos	Mayores	Una sesión de ejercicio interválico de alta intensidad en una bicicleta ergométrica por 20 min a 80% de la potencia pico	(↓):PGC1α (↑):mRNA PGC1α

					Continuación Tabla 5
Drummond et al. (2014)	Músculo	Humanos	Mayores sedentarios y activos	Sin intervención con ejercicio	(↑): Bnip3; Drp1; Parkin NS: Mfn2; Pink1
Fealy et al. (2014)	Músculo	Humanos	Mayores	12 semanas de ejercicio aeróbico por 60 min (20 min de bicicleta y 40 min de caminata) a 80-85%FC, 5 días/semana	(↓): Drp1 (↑): Opa1 NS: Mfn1; Mfn2; Pink1; Parkin
Gioscia-Ryan et al. (2016)	Arteria Carótida	Ratones	Jóvenes / Mayores (sedentarios y activos)	10 semanas de ejercicio aeróbico voluntario en una rueda	NS: PGC1α; Fis1; Mfn1
Gram et al. (2014)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	14 días de inmovilización y 20 sesiones de bicicleta ergométrica por 48-58 min a 85% FC.	↓( inmovilización): VDAC1 NS (entrenamiento): VDAC1
Gusdon et al. (2017)	Cerebro	Ratones	Mayores	3 semanas de carrera en tapiz rodante por 60 min a 15-19 m/min y 10° de inclinación	NS (Cortex): PGC1α, TFAM, Mfn2 NS (Striatum): PGC1α, TFAM, Drp1, Mfn2 (↑ - Cortex): Drp1 (↓): mRNA PGC1α NS: mRNA TFAM
Iversen et al. (2011)	Músculo	Humanos	Mayores	Una sesión de ciclismo a 75%VO <sub>2max</sub> hasta el agotamiento	(↓): PGC1α NS: TFAM; Mfn2; Opa1; Drp1; Fis1
Joseph et al. (2012)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	Sin intervención con ejercicio	(↓) (MC vs.J) mRNA: PGC1α; TFAM (↑) (ME vs. MC) proteína: PGC1α; TFAM
Kang et al. (2013)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	12 semanas de carrera en tapiz rodante 5 veces/semana por 45 min a 17,5 m/min y 10° de inclinación	(↑): PGC1α (↓): Mfn1 NS: TFAM; Fis1 (↑): PGC1α; Mfn1; Mfn2; Fis1
Koltai et al. (2012)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	6 semanas de carrera en tapiz rodante por 60 min a 10-22 m/min y 5-10° de inclinación	(↑): PGC1α; TFAM
Konopka et al. (2014)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	12 semanas de ciclismo 3-4 veces/semana a 60-80% FC de reserva por 20-45 min	(↑): PGC1α; TFAM
Lanza et al. (2008)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	Sin intervención con ejercicio	(↑): PGC1α; TFAM
Ljubcic et al. (2009)	Músculo	Ratas	Jóvenes / Mayores	7 días de electro estimulación 3 h/día a 10Hz por 0,1ms de duración	(↑): PGC1α; TFAM ¿?
Ogborn et al. (2015)	Músculo	Humanos	Jóvenes / Mayores	Una sesión de entrenamiento de fuerza (4 series de 10 rep a 75% de 1RM con 2minde intervalo de descanso entre las series)	(↑) (mRNA): PGC1α; PGC1α4 (3h); TFAM (24h) (↓) (mRNA): PGC1α1 (48h) NS: Parkin; Pink (↑): PGC1α
Palacios et al. (2009)	Músculo	Ratones	Jóvenes / Mayores	6 semanas de ejercicio aeróbico voluntario en una rueda	NS: Opa1; Mfn2
Picard et al. (2013)	Músculo	Ratones	Mayores	Una sesión de ejercicio aeróbico voluntario en una rueda por 3h.	NS: mRNA Bnip3 (↑): mRNA PGC1α
Wohlgemuth et al. (2011)	Músculo	Humanos	Mayores	24 semanas de ejercicio combinado (caminata + fuerza + flexibilidad) 2-3 veces/semana a intensidad moderada	(↓): Bnip3 NS: PGC1α
Zampieri et al. (2015)	Músculo	Humanos	Jóvenes, mayores sedentarios y mayores activos	Sin intervención con ejercicio	(↓): Bnip3 NS: PGC1α

VO<sub>2máx</sub>: consumo de oxígeno máximo; FC: frecuencia cardíaca; NS: sin alteración significativa.

Teóricamente, el ejercicio físico también podría tener efectos en las principales vías de señalización, que intervienen en el control de cantidad y

calidad mitocondrial durante el proceso de envejecimiento, como la mitofagia (Tam y Siu, 2014). Las mitocondrias producen durante su funcionamiento ROS que pueden actuar como moléculas de señalización, induciendo una respuesta de supervivencia, o causando daño a los componentes celulares. Sin embargo, la contracción del músculo esquelético durante el ejercicio físico puede activar una respuesta mitocondrial que mejora la calidad de las mitocondrias de diferentes maneras: 1) aumentando la biogénesis; 2) mejorando la expresión y la acción de las proteínas implicadas en la dinámica mitocondrial, como OPA1; 3) aumentando la renovación mitocondrial por la acción de proteínas de mitofagia, tales como PINK1, Parkin1, NIX y Bnip3; y 4) aumentando el control de calidad de las mitocondrias a través de la degradación de las mitocondrias dañadas o disfuncionales (Barbieri et al., 2015).

En este sentido, el ejercicio produciría un aumento inmediato de la activación mitocondrial que implica un aumento significativo en la expresión del factor de transcripción PGC-1 $\alpha$  y de los genes nucleares que codifican la expresión de las proteínas mitocondriales. Todas estas modificaciones se traducirían en un mayor contenido mitocondrial, con mejor rendimiento como el aumento del consumo de oxígeno y de la síntesis de ATP, reducción de la producción de ROS y el aumento de la capacidad mitofágica (Broskey et al., 2014). De hecho, el ejercicio físico regular induce la expresión génica de PGC-1 $\alpha$  en los músculos esqueléticos de ancianos (humanos y roedores) (Konopka et al., 2014; Broskey et al., 2014; Kang et al., 2013; Koltai et al., 2012; Cobley et al., 2012; Safdar et al., 2010; Palacios et al., 2009). Incluso 7 días de electroestimulación son capaces de aumentar este factor de transcripción en el músculo de la rata de edad avanzada (Ljubicic et al., 2009). Por el contrario, una sesión de ejercicio de alta intensidad, disminuye o no cambia los niveles de PGC-1 $\alpha$  (Gioscia-Ryan et al., 2016; Ogborn et al., 2015; Bori et al., 2012; Iversen et al., 2011). En la misma línea, los resultados de TFAM en los músculos muestran aumentos en esta proteína después de varias semanas de ejercicio aeróbico (Broskey et al., 2014; Kang et al., 2013), pero no se detectan cambios en los entrenamientos cortos o sesiones aisladas de ejercicio realizado por los seres humanos o ratas de edad avanzada (Gusdon et al., 2017; Koltai et al., 2012; Bori et al., 2012).

OPA1 es otra proteína que puede estar sin cambios (Picard et al., 2013; Joseph et al., 2012) o aumentada (Fealy et al., 2014) en respuesta al ejercicio. Se ha demostrado que 12 semanas de ejercicio aeróbico aumentaron los contenidos de OPA1 en el músculo esquelético de personas mayores (Fealy et al., 2014). El mecanismo por el cual el ejercicio podría promover el aumento de esta proteína todavía no está establecido, pero parece estar relacionado con el mantenimiento de niveles más altos de los procesos de fusión y fisión mitocondrial durante el ejercicio (Ju et al., 2016). Aunque los resultados no son concluyentes, el aumento de Mfn1 que se observó en el músculo durante el envejecimiento, podría revertirse en una única sesión de ejercicios en humanos (Bori et al., 2012) o en 6 semanas de entrenamiento aeróbico en cinta rodante en ratas (Koltai et al., 2012). Sin embargo, otros estudios en el músculo humano demostraron que Mfn1 y 2 se incrementaron después de 12 semanas de ciclismo (Konopka et al., 2014) o permanecieron inalteradas (Gusdon et al., 2017; Gioscia-Ryan et al., 2016; Fealy et al., 2014; Drummond et al., 2014; Picard et al., 2013; Joseph et al., 2012). En la misma línea, el comportamiento de Drp1 y Fis1 en respuesta a diferentes tipos de ejercicio en los ancianos no es suficiente claro (Gusdon et al., 2017; Gioscia-Ryan et al., 2016; Konopka et al., 2014; Fealy et al., 2014; Drummond et al., 2014; Joseph et al., 2012; Koltai et al., 2012; Bori et al., 2012). Este hecho también fue descrito en la sección anterior cuando sólo se evaluó el efecto de la edad.

En relación con las proteínas implicadas en la mitofagia, es posible considerar que una disminución en la biodisponibilidad de PINK1 y Parkin1 puede indicar un mayor grado de disfunción mitocondrial (Drummond et al., 2014) durante el envejecimiento. Por lo tanto, el aumento de estas proteínas, causado por el ejercicio puede ser un intento de promover el control de la calidad mitocondrial a través de la acción de la maquinaria mitofágica (Scarffe et al., 2014). Sin embargo, no hay un consenso general sobre los efectos del ejercicio durante el envejecimiento. Estudios que evaluaron PINK1, encontraron que esta proteína puede no sufrir alteraciones en los músculos humanos (Ogborn et al., 2015; Fealy et al., 2014; Drummond et al., 2014), lo que sugiere que esta vía no es estimulada por el ejercicio. Por otro lado, Parkin1 podría permanecer sin cambios (Ogborn et al., 2015; Fealy et al., 2014) o aumentar

(Drummond et al., 2014) en respuesta a la práctica de ejercicio en el tejido muscular de personas mayores. Es importante destacar, que en aquellos estudios en los que no se observaron cambios significativos en PINK1 o Parkin1, demostraron una tendencia hacia un aumento en la expresión de ambas proteínas (Ogborn et al., 2015; Fealy et al., 2014). Sin embargo, los resultados de estos estudios deben tomarse con precaución debido a varias razones, por ejemplo, en el estudio de Ogborn et al. (2015) es importante destacar que tanto los jóvenes como los ancianos fueron agrupados para demostrar el efecto del ejercicio en el tiempo, mientras que Fealy et al. (2014) reclutaron sólo sujetos obesos de edad (IMC: 34,6 Kg/m<sup>2</sup>).

VDAC1, otra proteína ubiquitinada por Parkin1, parece no mostrar alteraciones en respuesta al ejercicio. En esta línea, 20 sesiones de entrenamiento aeróbico en cicloergómetro no fueron capaces de cambiar la expresión de VDAC1 muscular en personas mayores (Ogborn et al., 2015; Gram et al., 2014). Sin embargo, se necesitan más estudios para analizar el comportamiento de esta proteína en relación con la práctica del ejercicio físico, para determinar con mayor precisión si el ejercicio físico puede inducir alteraciones en su expresión.

NIX aumenta en el músculo vasto lateral después del ejercicio aeróbico de muy larga duración en adultos mayores (Jamart et al., 2012). Esta proteína ejerce la regulación directa de la autofagia, ya que un aumento en su expresión puede indicar una mayor formación de autofagosomas y un mayor flujo mitofágico. De esta manera, parece que el ejercicio puede estimular el aumento de la expresión de NIX y en consecuencia de la mitofagia, aunque el mecanismo por el cual el ejercicio produce este aumento no está aclarado (Jamart et al., 2012). Por otra parte, no se encuentran cambios en mRNA de NIX en respuesta a la práctica de ejercicio en el músculo de personas mayores (Ogborn et al., 2015).

Bnip3 es otra proteína que no parece tener un comportamiento muy claro en respuesta al ejercicio. Mientras que una investigación encontró un aumento de esta proteína en el músculo esquelético de ancianos activos (Drummond et al., 2014), otros estudios informaron una disminución (Zampieri

et al., 2015) o ausencia de cambios, incluso después de 24 semanas de ejercicio combinado (Ogborn et al., 2015; Wohlgemuth et al., 2011). Esta contradicción entre los estudios, puede ser causada nuevamente por diferencias metodológicas, porque los protocolos de ejercicio difieren, lo que podría explicar las diferencias de respuesta.

La mayoría de las investigaciones realizadas en muestras de músculos humanos parecen señalar, que el nivel de actividad física no cambia el contenido de Beclin1 en sujetos de edad avanzada (Zampieri et al., 2015). En la misma línea, Beclin1 parece no alterarse en respuesta a una única sesión o a 8 semanas de entrenamiento de fuerza (Ogborn et al., 2015; Tanner et al., 2015). No obstante, Drummond et al. (2014), Mejías-Peña et al. (2017) y Mejías-Peña et al. (2016) demostraron un aumento de esta proteína en los ancianos que entrenaron.

Por otro lado, los niveles de LC3II o LC3II/I se incrementaron en el músculo humano y las PBMC después de una única sesión de entrenamiento de fuerza (Ogborn et al., 2015), de 8 semanas de entrenamiento de resistencia aeróbica o de entrenamiento de fuerza de alta intensidad (Mejías-Peña et al., 2016; Tanner et al., 2015). Del mismo modo, un programa de 8 semanas de entrenamiento de fuerza indujo un aumento no significativo en la relación LC3II/I en PBMC de personas mayores (Mejías-Peña et al., 2017). Los niveles cerebrales del marcador de autofagia LC3I no se alteraron en ratones después de completar 3 semanas de carrera en tapiz rodante (Gusdon et al., 2017).

Por lo tanto, parece que el ejercicio estimula la biogénesis y dinámica mitocondrial y la capacidad mitofágica, aunque no hay un consenso sobre el comportamiento de diferentes proteínas en respuesta a un estímulo físico. Los estudios futuros, deberían centrarse en investigar los efectos que los diferentes protocolos de ejercicio físico pueden causar en la expresión de las proteínas mitocondriales, así como si la práctica del ejercicio podría prevenir el daño mitocondrial y sus efectos sobre las mitocondrias disfuncionales.

En resumen, el mantenimiento de la función mitocondrial y la mitofagia es esencial para las células, ya que las mitocondrias están involucradas tanto en el metabolismo adaptativo como en la supervivencia en respuesta al estrés

celular. Aunque los estudios analizados no muestran un consenso general, parece que el envejecimiento deteriora la biogénesis y la dinámica mitocondrial, y disminuye la capacidad mitofágica del organismo. Varias intervenciones, como el ejercicio físico regular, son capaces de afectar la actividad y la renovación de las mitocondrias mediante el aumento de la biogénesis y la mitofagia. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para determinar los mecanismos de interacción entre las funciones mitocondriales, el envejecimiento y el ejercicio físico, así como para analizar los posibles factores que se suponen que influyen en estos procesos.

## **3. *Objetivos***

---



### **3. OBJETIVOS**

A la vista de los antecedentes y de las lagunas de conocimiento encontradas, nos propusimos para la presente Tesis Doctoral los siguientes objetivos:

#### **3.1. Objetivo General**

Analizar los efectos de un programa de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas sobre las diferentes manifestaciones de la fuerza muscular, los indicadores de aptitud funcional, la composición corporal y las proteínas de señalización de la mitofagia en personas mayores.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

- Identificar las adaptaciones producidas por un programa de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas sobre las distintas manifestaciones de la fuerza muscular, los indicadores de aptitud funcional y la composición corporal en personas mayores.
- Contrastar el perfil de las proteínas de señalización de la mitofagia de personas mayores, frente al de sujetos jóvenes.
- Comparar el perfil de las proteínas de señalización de la mitofagia en personas mayores, según sexo.

- Establecer el efecto de un programa de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas sobre las proteínas de macroautofagia, dinámica mitocondrial y mitofagia en personas mayores.

## ***4. Materiales y Métodos***

---



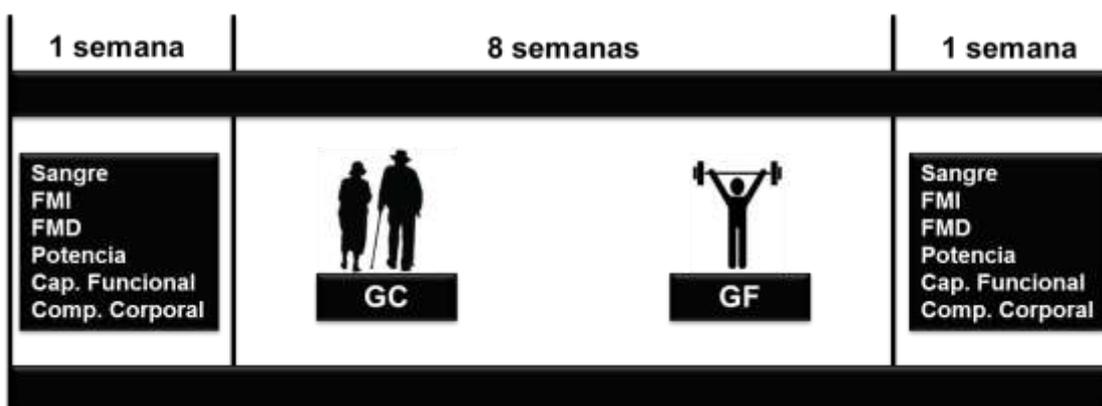
## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Diseño experimental**

El presente estudio está caracterizado por ser una investigación experimental, con duración de diez semanas de intervención. En la primera y en la última semana fueron realizadas las determinaciones de fuerza, capacidad funcional, composición corporal y las extracciones sanguíneas en los voluntarios. Entre la segunda y la novena semanas fue realizada la intervención de la fase experimental.

La fase experimental estuvo compuesta por dos etapas, siendo una representada por el programa de entrenamiento de fuerza, realizado en el laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte, y la segunda representada por los análisis de biología molecular que se llevaron a cabo en el Instituto de Biomedicina (IBIOMED), ambos pertenecientes a la Universidad de León – España.

La figura 10 presenta un esquema ilustrativo del modelo experimental utilizado en el presente trabajo de investigación. Durante la primera semana se realizaron las pruebas de fuerza isométrica máxima, fuerza dinámica máxima, potencia, capacidad funcional, composición corporal y extracciones sanguíneas en todos los voluntarios del grupo control (GC) y del grupo entrenamiento de fuerza (GF). De la semana dos a la semana nueve se llevó a cabo el programa de entrenamiento de fuerza en el grupo experimental, mientras que los voluntarios del grupo control permanecieron con sus rutinas diarias. Durante la décima semana se volvieron a realizar las pruebas de fuerza isométrica máxima, fuerza dinámica máxima, potencia, capacidad funcional, composición corporal y extracciones sanguíneas en todos los voluntarios.



**Figura 10. Esquema ilustrativo del modelo experimental utilizado en el presente trabajo de investigación.**

#### **4.2. Participantes**

La población objeto de estudio está constituida por personas mayores, de edad entre 70 y 77 años, residentes en la ciudad de León.

Inicialmente, fue realizada una campaña de captación de los posibles voluntarios por teléfono y por carteles informativos en el Programa Interuniversitario de la Experiencia en la Universidad de León y en centros de atención a las personas mayores de esta ciudad. Las personas que se interesaron en participar fueron informadas de todos los procedimientos del estudio en una reunión previa a la realización del mismo.

Después de esta reunión, aquellas personas que aún estaban interesadas en participar y que cumplían los criterios de inclusión y exclusión del estudio fueron divididas aleatoriamente en dos grupos, control y experimental.

Los criterios de inclusión adoptados fueron: tener entre 70 y 77 años, estar clínicamente apto para la realización regular de ejercicios físicos, poseer

un nivel de independencia funcional que permitiera realizar los ejercicios propuestos, no presentar alguna enfermedad aguda o crónica no controlada que pudiera verse afectada por la práctica de los ejercicios, ser físicamente activo y consentir libre y voluntariamente en realizar todos los procedimientos del estudio.

Los criterios de exclusión fueron: presentar alguna limitación ósea o articular que impidiera la realización de las evaluaciones, poseer un nivel de deficiencia cognitiva que afectase el entendimiento de los procedimientos a ser ejecutados, o estar empleando con anterioridad a la fase experimental, medicamentos hormonales o antiinflamatorios.

Aquellos voluntarios que atendían a todos los criterios de inclusión y que no presentaban ningún criterio de exclusión, fueron admitidos en el estudio, y rellenaron el cuestionario de aptitud para la práctica de ejercicios físicos regulares (*Physical Activity Readiness Questionnaire – PAR-Q*) (Chisholm et al., 1975; Shepard, 1988), así como el consentimiento informado para participación en el estudio, que fue previamente aprobado por el Comité de Ética para investigaciones con seres humanos de la Universidad de León, de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Considerando un tamaño del efecto de 0,6, una probabilidad de error  $\alpha$  de 0,05 y un poder ( $1 - \text{error } \beta$ ) de 0,95, la muestra total del estudio debería tener 40 personas, según el programa de análisis del poder estadístico G\*Power de la Universidad de Dusseldorf. Así para garantizar el tamaño mínimo, la muestra inicial del estudio estuvo formada por 48 voluntarios (25 mujeres y 23 varones) que fueron asignados aleatoriamente al grupo control (GC: n=18; 10 mujeres y 8 varones) y al grupo entrenamiento de fuerza (GF: n=30; 15 mujeres y 15 varones).

Además de estos 48 voluntarios, también fueron evaluados, por medio de extracción sanguínea, 12 varones jóvenes, con edad entre 18 y 24 años, con la finalidad de conocer valores de referencia para las variables autofágicas y mitofágicas, en un grupo de personas que poseen plenitud de su capacidad funcional y fisiológica. De esta manera se puede establecer si, tras la

realización del programa de entrenamiento de fuerza, los valores de las variables autofágicas y mitofágicas en las personas mayores se acercaban a los valores de las mismas variables en los jóvenes.

#### **4.3. Variables e instrumentos de recolección**

Fueron registrados indicadores sociodemográficos (sexo y edad) y antropométricos (talla, peso, IMC) para caracterización de la muestra. Se evaluaron también la composición corporal, las diferentes manifestaciones de la fuerza y la capacidad funcional. Además, fueron recolectadas muestras sanguíneas para la extracción de células mononucleares y la posterior cuantificación de proteínas. A continuación, se describen detalladamente los procedimientos de evaluación e instrumentos utilizados.

##### **4.3.1. Evaluación de los indicadores antropométricos**

Fueron evaluadas variables antropométricas como estatura, masa corporal e índice de masa corporal (IMC) para caracterización de la muestra.

La estatura fue evaluada con un tallímetro de pared SECA Mess Band, con precisión de 1 mm. La masa corporal fue evaluada con una báscula SECA Detecto, con precisión de 100 gramos. Los procedimientos utilizados para obtención de las medidas de estatura y masa corporal siguieron las normativas indicadas por la *International Society for the Advancement of Kinanthropometry* (ISAK, 2011). A partir de los datos de estatura y masa corporal, fue calculado el IMC, dividiéndose la masa corporal por el cuadrado de la estatura, expresado en metros.

#### 4.3.2. Evaluación de la composición corporal

Los voluntarios fueron sometidos a una exploración de cuerpo entero con el densitómetro General Electric, modelo Lunar Prodigy y un software Encore 2009, versión 13.0, para medir la composición corporal. El aparato fue debidamente calibrado antes de la realización de las exploraciones.

La exploración de cada voluntario se hizo guardando reposo, siempre que fuera posible retirando de su cuerpo todos los accesorios que pudiesen interferir o falsear los resultados de la medición. Se requirió que el sujeto se acostara en decúbito supino sobre el aparato, con los miembros superiores (MMSS) extendidos paralelos al tronco, con las manos en pronación y apoyadas en la superficie de la camilla. Los miembros inferiores (MMII) también se dispusieron extendidos, con separación estándar al ancho de la cadera y fijados por una cinta que mantenía la separación de manera cómoda (Moreira et al., 2015; Moreira, Oliveira y de Paz, 2018).

Cada exploración tuvo una duración aproximada de 7 minutos y a través de las mismas, se obtuvieron medidas de la masa corporal total (MCT), masa grasa (MG) total, masa muscular (MM) total, contenido mineral óseo (CMO) total y densidad mineral ósea (DMO) total. Además, se definió una región específica de la MM de los MMI, denominada Región de interés (ROI por sus siglas en inglés), comprendida desde la interlínea femorotibial hasta el punto de contacto con la línea que pasa por el borde inferior de los dos isquiones, siendo los mismos puntos considerados para el muslo derecho y el muslo izquierdo. La delimitación medial y lateral de la ROI se trazó de manera que recogiera todo el tejido blando del segmento.

#### 4.3.3. Evaluación de las manifestaciones de la fuerza

En los MMII se evaluó la fuerza de extensión de rodillas en tres formas de manifestación de esta calidad física (FMI, FMD y potencia). Con respecto a la fuerza de los MMSS se evaluó la FMI y la FMD en el ejercicio de *press* de banca, además también fue evaluada la fuerza de prensión manual (FPM). En todos los casos se explicó a la persona evaluada la técnica y condiciones de ejecución de las pruebas; se realizaron tanto repeticiones de ensayo, como calentamiento específico previo, los cuales permitieron el conocimiento y familiarización. Por otra parte, durante las pruebas se animó a realizar el máximo esfuerzo posible en cada forma de evaluación de la fuerza, con estímulos verbales constantes por la parte del evaluador.

##### 4.3.3.1. Evaluación de la FMI de los MMII

Se empleó una célula de carga o galga extensiométrica Globus Ergometer® con frecuencia de muestreo de 1000 Hz y el software Globus Ergo Tester v1.5, Italia, para la realización de la evaluación de la FMI en los MMII. La galga extensiométrica fue ubicada en una máquina de extensión de rodillas BH Fitness Nevada Pro-T®, España, uno de sus extremos se fijó mediante una cadena a la parte baja del soporte del asiento y el otro extremo fue fijado al brazo de palanca de la máquina, como puede ser observado en la figura 11. Antes de la ejecución de la prueba, el asiento y las piezas que sujetaban la galga fueron ajustados de manera que se obtuviera un ángulo de 90° de flexión de la rodilla del evaluado. El ángulo fue verificado con un goniómetro TEC®, España, fijando por un lado el eje en el cóndilo femoral lateral y por otro las pinzas móviles, una paralela al eje mayor del muslo y la otra al de la pierna. La ejecución de la prueba fue llevada a cabo estando el evaluado sentado en la máquina con la cabeza y el tronco apoyados al respaldo del asiento, agarrando con las manos los soportes laterales y manteniendo las rodillas en flexión de

90° (Medina-Perez et al., 2014; Patiño-Villada, Arboleda-Franco y Paz-Fernández, 2015).

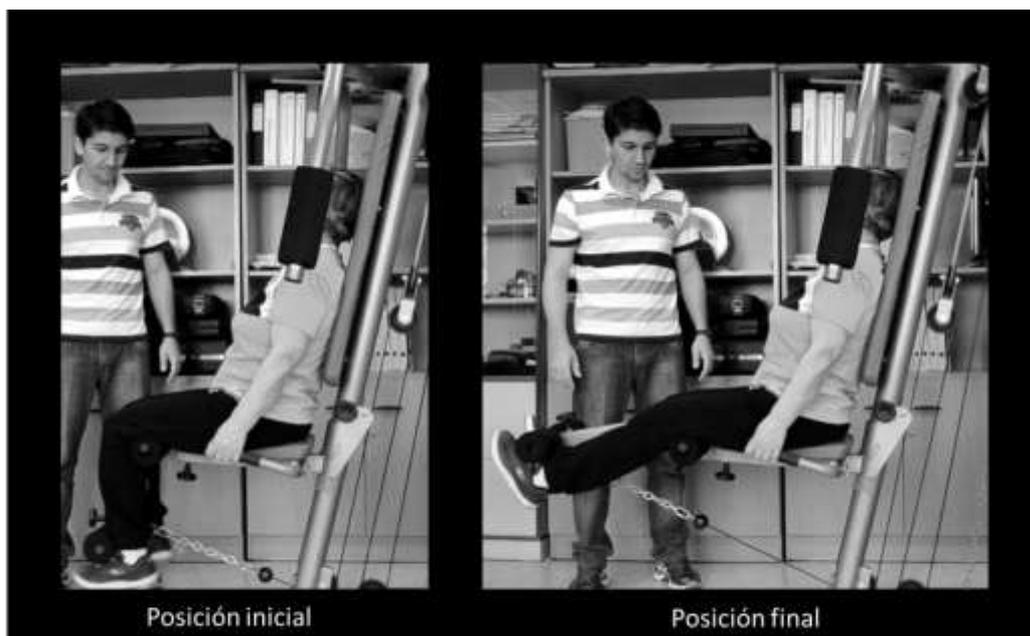
El evaluador procedió a hacer un conteo regresivo desde tres, hasta la voz “¡Ya!”, donde accionó el comando de la galga, a la ya que el evaluado realizaba una tensión isométrica máxima del cuádriceps femoral durante 5 segundos, intentando lograr sus máximos valores lo más rápido posible y mantenerlos durante todo el periodo de tiempo. Durante la ejecución, se realizó un estímulo verbal en busca de inducir una mayor tensión, así como la permanencia de sus máximos niveles durante toda la prueba. Fueron realizados dos intentos, separados por un intervalo de 2 minutos de descanso entre ellos, siendo considerado el mayor valor de los dos intentos como la FMI. Los valores fueron registrados en kilogramos fuerza (kgf).



**Figura 11. Ilustración de la colocación de la galga y de la posición del evaluado en la prueba de FMI de los MMII.**

#### 4.3.3.2. Evaluación de la fuerza máxima dinámica (FMD) de los MMII

Se empleó una máquina de extensión de rodillas BH Fitness Nevada Pro-T®, España, para la ejecución del test de 1 repetición máxima (1RM), con el objetivo de realizar la evaluación de la FMD en los MMII. La posición inicial del evaluado fue la misma empleada para evaluar la FMI, es decir, posición sentada con la cabeza y la espalda apoyadas en el respaldo del aparato, las manos agarrando el soporte lateral y las rodillas en flexión de 90°. Para la realización de esta prueba, se solicitó al voluntario que extendiera las piernas hasta que la rodilla formara ángulo aproximado de 180° (posición final) y que volviera a la posición inicial, como se muestra en la figura 12.



**Figura 12. Ilustración de las posiciones inicial y final en la prueba de fuerza dinámica máxima de los MMII.**

Antes de la determinación del 1RM, se realizó un calentamiento específico previo, constituido por 4 repeticiones con 50% de la carga obtenida en la prueba de FMI. Al final del calentamiento, se solicitó al evaluado su percepción de esfuerzo, por medio de una escala OMNI-RES de 0 a 10

(Robertson et al., 2003; Gearhart et al., 2011). A continuación, el peso fue incrementado a criterio del evaluador, según la facilidad de ejecución y la percepción de esfuerzo del evaluado y se solicitó al voluntario que ejecutase dos repeticiones con el nuevo peso. El peso fue incrementado hasta que el ejecutante consiguiese hacer solamente una repetición. Se realizaron un máximo de 5 intentos de carga para la determinación del 1RM, con un intervalo de descanso de 2 minutos entre cada intento. Los valores del 1RM fueron definidos en kilogramos.

#### 4.3.3.3. Evaluación de la potencia de los MMII

La potencia se define como la fuerza resultante de movilizar una carga previamente establecida, con la mayor velocidad y desplazamiento posibles.

Se empleó una máquina de extensión de rodillas BH Fitness Nevada Pro-T®, España, para la evaluación de esta manifestación de fuerza en los MMII, partiendo de la misma posición inicial (90° de flexión de rodillas) y llegando a la misma posición final (180° de extensión de rodillas) de la prueba de 1RM. Fueron utilizadas 5 cargas distintas para la evaluación de la potencia, obtenidas a partir de valores porcentuales del 1RM (40%, 50%, 60%, 70% y 80% de 1RM), dónde se solicitó al evaluado que realizase el movimiento de extensión de las rodillas (fase concéntrica del movimiento) a la mayor velocidad posible. La vuelta de las rodillas a la posición inicial fue realizada de manera controlada, con una micro pausa de 1 a 2 segundos, para evitar que el efecto de la fuerza elástica acumulada interfiriese en la ejecución siguiente. Las cargas de esta prueba fueron aleatorizadas en cada sujeto para controlar un posible sesgo relacionado con el efecto de aprendizaje o por acción acumulativa de la fatiga. En cada carga se realizaron 2 repeticiones con 2 minutos de intervalo de descanso entre las cargas (Medina-Perez et al., 2014).

Se utilizó un transductor de posición lineal o *Encoder* Globus Real Power®, Italia, con una frecuencia de muestreo de 1000 Hertz, una unidad

central Tesys 800 y el *Software* Tesys 2008-Real Power 20.40 Test, para determinar los valores de potencia. El *Encoder* se conectó a las masas de resistencia de la máquina de extensión de rodillas, de modo que se monitorizó el desplazamiento vertical de las mismas, como demuestra la figura 13. Por medio de este instrumento fue posible obtener información sobre el desplazamiento (m), la velocidad (m/s), la potencia media (w) y la potencia pico (w).



**Figura 13. Colocación del *encoder* en la máquina de extensión de rodillas para tomar la medida de la potencia.**

#### 4.3.3.4. Evaluación de la FMI en los MMSS

Se empleó una célula de carga o galga extensiométrica Globus Ergometer® con frecuencia de muestreo de 1000 Hz y el software Globus Ergo Tester v1.5, Italia, para la realización de la evaluación de la FMI en los MMSS. La galga extensiométrica fue ubicada en una máquina de *press* de banca BH

Fitness Nevada Pro-T ®, España, de modo que uno de sus extremos se fijó mediante una cadena a la parte baja del soporte de fijación de los pesos y el otro extremo fue fijado al cable de acero, el cual sufre tracción cuando se mueve el brazo de palanca de la máquina, como puede ser observado en la figura 14. Antes de la ejecución de la prueba, el brazo de palanca donde los evaluados harían la fuerza fue ajustado de manera que se obtuviera un ángulo de 90° de flexión del codo. El ángulo fue verificado con un goniómetro TEC ®, España, fijando, por un lado, el eje en el cóndilo lateral del húmero y por otro, las pinzas movibles, una paralela al eje mayor del brazo y la otra al del antebrazo. Para la ejecución de la prueba, el evaluado se sentó en la máquina con la cabeza y el tronco apoyados al respaldo del asiento, agarrando las manos a los mandos de la palanca, con abducción de 90° del hombro y flexión de 90° del codo.

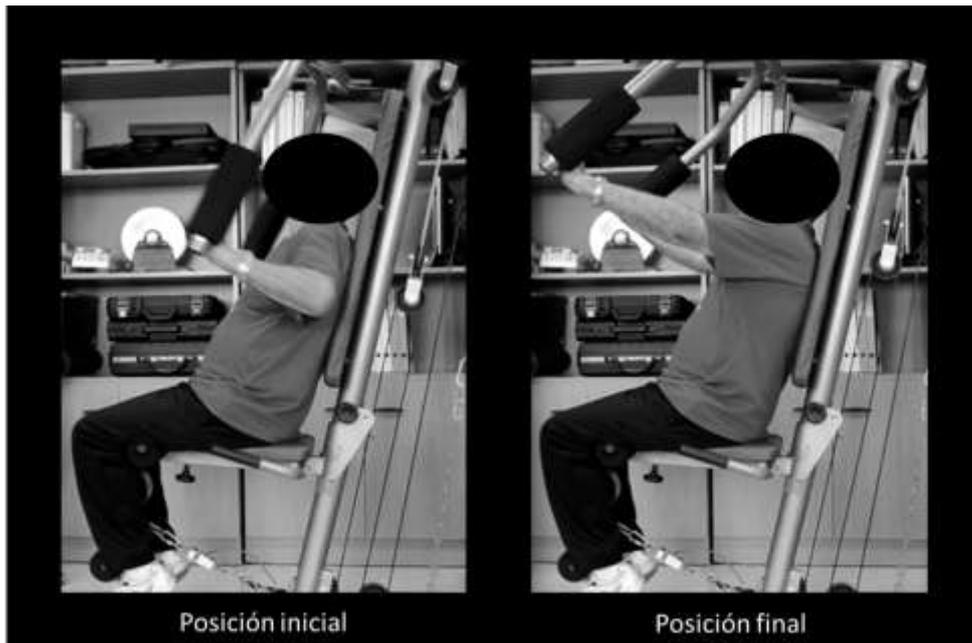


**Figura 14. Ilustración de la colocación de la galga y de la posición del evaluado en la prueba de FMI de los MMSS.**

La ejecución de la prueba y el registro de la información fueron similares a la prueba de FMI de los MMII. Tras la señal del evaluador, el voluntario realizó durante 5 segundos una máxima contracción de los pectorales y extensores del codo, intentando lograr sus máximos valores lo más rápido posible y mantenerlos durante todo el periodo de tiempo. Fueron realizados dos intentos con 2 minutos de intervalo de descanso entre ellos, siendo registrado el valor más alto obtenido en kg.

#### 4.3.3.5. Evaluación de la FMD de los MMSS

También se empleó una máquina de *pres* de banca BH Fitness Nevada Pro-T®, España, para la realización de la evaluación de la FMD en los MMSS. La posición inicial del evaluado fue la misma empleada para evaluar la FMI, es decir, sentado con la cabeza y la espalda apoyadas en el respaldo del aparato, los hombros en abducción de 90°, los codos en flexión de 90° y las manos sujetando el mando del brazo de palanca. Para la realización de esta prueba, el voluntario ejecutó la aducción horizontal del hombro y la extensión de los codos hasta llegar a un ángulo aproximado de 180° (posición final) y volver a la posición inicial, como queda demostrado en la figura 15.



**Figura 15. Ilustración de las posiciones inicial y final en la prueba de fuerza dinámica máxima de los MMII.**

Antes de la determinación del 1RM, se realizó un calentamiento específico previo constituido por 4 repeticiones con 50% de la carga obtenida en la prueba de FMI. Al final del calentamiento, se solicitó al evaluado su percepción de esfuerzo, por medio de una escala OMNI-RES de 0 a 10 (Robertson et al., 2003; Gerhard et al., 2011). A continuación, el peso fue incrementado a criterio del evaluador, según la facilidad de ejecución y la percepción de esfuerzo del evaluado y se solicitó al voluntario que ejecutase dos repeticiones con el nuevo peso. El peso fue incrementado hasta que el ejecutante consiguiese hacer solamente una repetición. Fue realizado un máximo de 5 intentos de carga para determinación del 1RM, con intervalo de descanso de 2 minutos entre cada intento. Los valores del 1RM fueron definidos en kilogramos.

#### 4.3.3.6. Evaluación de la fuerza de prensión manual (FPM)

Se utilizó un dinamómetro Jamar® de 1 kg de precisión (Lafayette Instrumento Company USA), para evaluar la FPM. El evaluado permaneció sentado con el brazo perpendicular al tronco, el codo en extensión completa, sujetando con la mano el dinamómetro, según las recomendaciones de la *American Society of Hand Therapists* (Lam et al., 2015). A la orden del evaluador, la persona ejerció la máxima fuerza posible sobre el dispositivo por un tiempo máximo de 3 segundos. Se hicieron 2 intentos con la mano dominante, con una pausa entre cada uno de 15 segundos y se registró el valor de la mejor ejecución en kg, como demuestra la figura 16.



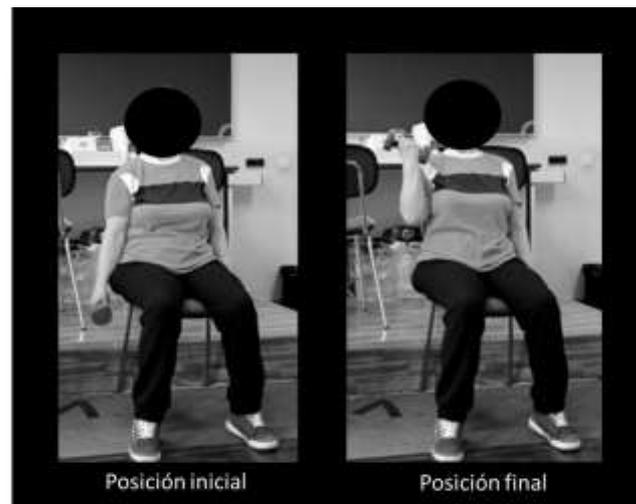
**Figura 16. Ilustración de la posición del evaluado en la prueba de fuerza de prensión manual.**

#### 4.3.4. Evaluación de la capacidad funcional

Se utilizó la batería *Senior Fitness Test* (Rikli y Jones, 1999; Rikli y Jones, 2013), para evaluar la capacidad funcional de los voluntarios. Esta batería está compuesta por las pruebas *arm curl test* (ACT), *30s – chair stand test* (30CST), *2 minutes step test* (2MST) y *8 foot up-and-go test* (8FUG). En todos los casos se explicaron a la persona evaluada las técnicas y las condiciones de ejecución de las pruebas, tanto de forma verbal, como por demostración y se realizaron repeticiones de ensayo para que se familiarizase. Durante la realización de todas las pruebas, se animó a los voluntarios de modo que realizasen el máximo esfuerzo posible en cada una de las pruebas, con estímulos verbales constantes por la parte del evaluador.

##### 4.3.4.1. Arm curl test (ACT)

El ACT consistió en una prueba de flexión del codo, donde el evaluado debía estar sentado en una silla de 44 cm de alto con la espalda recta y apoyada en el respaldo de la silla, con las plantas de los pies apoyadas en el suelo, separadas a la anchura de los hombros y con la parte dominante del cuerpo alineado con el borde de la silla. El evaluado debía sujetar el peso con la mano dominante. La posición inicial del segmento (miembro superior del lado dominante) debía ser perpendicular al suelo, paralelo al tronco, con el codo extendido a 180° y las manos en agarre neutro (pronosupinación). El movimiento se realizó con la flexión total del codo (cercana a 135° o más) y con la rotación del antebrazo, ejecutando la supinación de la mano (posición final) y volviendo a la posición inicial, como se muestra en la figura 17. A la señal del evaluador, el voluntario realizó el máximo número de movimientos completos posibles en 30 segundos. Los pesos utilizados fueron una mancuerna de 2 Kg para las mujeres y una de 4 Kg para los hombres (Patiño-Villada, Arboleda-Franco y Paz-Fernández, 2015). Se realizó un solo intento y el tiempo fue monitoreado mediante un cronómetro digital Oregon Scientific SL110 ®.



**Figura 17. Ilustración de las posiciones inicial y final en el *arm curl test*.**

#### 4.3.4.2. 30s – chair stand test (30CST)

La prueba 30CST consistió en sentarse y levantarse de una silla, el mayor número de veces posible en 30 segundos. La posición inicial para la realización de esta prueba fue con el evaluado sentado en una silla de 44 cm de altura, con la espalda recta, los pies apoyados en el suelo, los brazos cruzados en el pecho y las manos apoyadas en el hombro. El movimiento realizado debía ser de levantarse de la silla, poniéndose con las rodillas, la cadera y la espalda rectas (posición final) y volver a la posición inicial, como demuestra la figura 18. A la señal del evaluador, el voluntario debía realizar el máximo número de movimientos completos posibles en 30 segundos. La prueba se ejecutó en un solo intento y el tiempo fue monitoreado mediante el cronómetro digital Oregon Scientific SL110 ®.



**Figura 18. Ilustración de las posiciones inicial y final en el 30s – *chair stand test*.**

#### 4.3.4.3. 2 minutes step test (2MST)

La prueba 2MST consiste en una caminata estacionaria de 2 min, al mejor ritmo posible. Esta prueba se inicia con el voluntario de pie, con las manos apoyadas en la cintura, y con la columna y la cabeza rectas. Fue estandarizado un punto en la superficie anterior del muslo, en el punto medio entre la espina iliaca antero superior y la patela, estando el sujeto de pie, lo cual sirvió para controlar la altura mínima de elevación de la rodilla. A partir de esta medida fue colocado un dispositivo, tensionando un elástico entre 2 paralelos y situándolos enfrente del ejecutante, a modo de *feedback* (Patiño-Villada, Arboleda-Franco y Paz-Fernández, 2015). El movimiento realizado por el voluntario debía ser el de elevar la rodilla hasta la altura determinada por el elástico, volver a la posición inicial, realizar el mismo movimiento con la otra rodilla (contralateral) (posición final) y volver a la posición inicial. A la señal del evaluador el evaluado debía realizar el máximo número de ciclos de pasos posibles, con la elevación adecuada de la rodilla, en 2 min. La prueba se

ejecutó en un solo intento y el tiempo fue monitoreado mediante el cronómetro digital Oregon Scientific SL110 ®.

#### 4.3.4.4. 8 foot up-and-go test (8FUG)

En la prueba 8FUG, el movimiento realizado por el voluntario debía ser de levantarse, caminar, dar la vuelta en un cono, de 60 cm de altura, situado a 2,44m de la silla, volver caminando y sentarse otra vez en la silla, como ilustrado en la figura 19. En esta prueba, el evaluado debía partir de una posición inicial sentado en una silla de 44 cm de altura, con la espalda recta y apoyada en el respaldo de la silla, con las plantas de los pies apoyadas en el suelo, separadas a la anchura de los hombros y con las manos apoyadas sobre el muslo. A la señal del evaluador, el evaluado ejecutó el recorrido, caminando lo más rápido posible sin correr, en el menor tiempo posible. La prueba se ejecutó en 2 intentos, siendo registrado el menor tiempo empleado para la realización de la prueba. El tiempo fue monitoreado mediante un cronómetro digital Oregon Scientific SL110 ®.



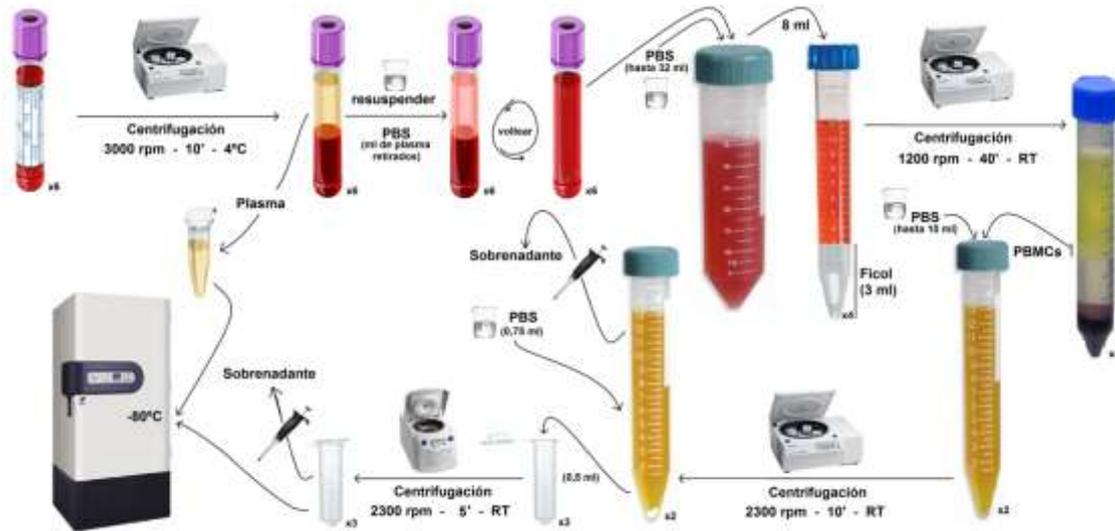
**Figura 19. Ilustración de las posiciones inicial y final en el 8 foot up-and-go test.**

#### 4.3.5. Obtención de las muestras sanguíneas

Se recogió un volumen de 24 mL de sangre por punción de la vena braquiocefálica, entre 5 y 6 días antes y después del período de entrenamiento, usando el sistema *Vacutainer* (BD, Franklin Lakes, NJ, EE.UU.) con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) como anticoagulante, siempre a la misma hora y en condiciones de ayuno de 8 horas.

Para el aislamiento de las células mononucleares de la sangre periférica (PBMC) se centrifugaron los *vacutainers* a 3000 rpm durante 10 min a 4°C para separar el plasma. El plasma sobrenadante fue retirado del tubo por aspiración, con una pipeta de 200  $\mu$ L, y almacenado en tubos de polipropileno (eppendorfs) de 1,5 mL, para el posterior congelamiento. El resto de la muestra fue reconstituida con tampón fosfato salino (PBS), en la misma proporción de plasma retirado, y se agitó a mano para mezclar esta solución. El contenido de los tubos, ya mezclados con el PBS, fue depositado en un Falcon de 50 mL, y diluido con más PBS hasta completar 48 mL. A continuación, esta solución de sangre y PBS fue dividida en 6 Falcons de 15 mL, que contenían 3 mL de Ficoll (Biochrom AG, Berlin, Alemania), con el objetivo de obtener el aislamiento de las PBMC, por medio de la formación de un gradiente de separación por densidad. Posteriormente, se realizó otra centrifugación de estos Falcons a 1200 rpm durante 40 min a temperatura ambiente (RT), para que se formase la interfase de PBMC. Esta interfase de células fue aspirada con una pipeta de 200  $\mu$ L, y el contenido de células se transfirió a un nuevo tubo Falcon de 15 mL, donde se añadió PBS hasta un volumen final de 12 mL y se centrifugó a 2300 rpm durante 10 min a RT, con el objetivo de lavar las células. Tras la centrifugación, se formó un *pellet* de células y un sobrenadante de PBS, que fue eliminado del tubo en único golpe. Se resuspendió el *pellet* de PBMC en 1 mL de PBS y esta nueva solución fue dividida en tres eppendorfs de 2 mL, para nueva centrifugación a 2300 rpm durante 5 min a RT, objetivando nuevo lavado de estas células. Al final de la centrifugación se formó nuevamente un *pellet* de

células y un sobrenadante de PBS. Ese sobrenadante fue cuidadosamente aspirado y el *pellet* de PBMC congelado a  $-80^{\circ}\text{C}$  (Cuevas et al., 2005) (figura 20).



**Figura 20. Esquema ilustrativo del proceso de extracción de células mononucleares de la sangre periférica (PBMC).** Cortesía de Brisamar Estébanez González.

#### 4.3.6. Cuantificación de proteínas totales

Las PBMC se homogeneizaron en 150  $\mu\text{L}$  de tampón de sonicación de pH 7,4, constituido por sacarosa 0,25 mM, EDTA 1 mM, Tris 10 mM y un cóctel inhibidor de proteasas y fosfatasa (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.), con un procesador de ultrasonidos (UP100H, Hielscher, Teltow, Germany). La sonicación fue realizada en 2 ciclos de 20" con un intervalo de 10" entre cada ciclo.

La cuantificación de proteínas totales de las muestras de PBMC se llevó a cabo mediante una modificación del método de Bradford (Bradford, 1976). En cada micro cubeta de una placa de 96 pocillos se añadieron 160  $\mu\text{L}$  de cada muestra (previamente diluidas 1:318) o 160  $\mu\text{L}$  de cada punto de la recta patrón previamente realizada (de concentraciones conocidas de albúmina sérica

bovina (BSA) con la cual, posteriormente se interpolaron las muestras de concentración desconocida, objeto de estudio). A las muestras problema y a los puntos de la recta patrón se les adicionaron 40  $\mu$ L de reactivo de Bradford (Biorad, Hercules, CA, EE.UU.), el cual se une a las proteínas de las muestras o puntos de la recta patrón. Finalmente, se leyó la absorbancia a 595 nm en un lector de placas *Biotek Synergy HT* (Biotek, Winnoski, VT, EE.UU.).

#### 4.3.7. Cuantificación de proteínas por *Western Blot*

Tras el análisis de la concentración de proteína por el método Bradford, se tomó un volumen de muestra equivalente a 25  $\mu$ g de proteína para su separación mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico (SDS-PAGE). Para el análisis de PGC1 $\alpha$ , Mfn1, DRP1, OPA1, Parkin, PINK1, HSP60 y p62 se usaron geles al 9%, para el análisis de Bnip3, NIX, VDAC1 y LC3 se utilizaron geles al 14%. Además, con el fin de realizar un control proteico, en cada uno de los geles se analizó la proteína  $\beta$ -actina, como control de carga.

Una vez separadas, las proteínas fueron transferidas a membranas de fluoruro de polivinilideno (PVDF) Immobilon-P (Millipore, Billerica, MA, EE.UU.) mediante el sistema Trans Blot Turbo Transfer (Biorad, Hércules, CA, EE.UU.). A continuación, se bloquearon las uniones no específicas mediante incubación de las membranas en solución de bloqueo (leche sin grasa – desnatada – al 5% en PBS-Tween (PBS-T)) durante 1 h a RT. Posteriormente, las membranas se incubaron con los anticuerpos primarios específicos de cada proteína, según la concentración requerida, durante toda la noche (overnight), a 4°C. Los anticuerpos frente a DRP1, p62 y LC3 se compraron a *Cell Signaling Technology*® (Beverly MA, EE.UU.); los anticuerpos frente a PGC1 $\alpha$  y VDAC1 se adquirieron a *Santa Cruz Biotechnology*® (Santa Cruz, CA, EE.UU.); los anticuerpos frente a Mfn1, OPA1, Parkin, PINK1, Bnip3 y NIX se obtuvieron a *Abcam*® (Cambridge, UK); la  $\beta$ -actina (42 kDa) se compró a *Sigma-Aldrich*®

(St Louis, MO, EE.UU.). La descripción de los anticuerpos primarios específicos utilizados en la técnica de *Western Blot* para detectar y cuantificar las proteínas está expuesta en la tabla 6.

La unión del anticuerpo primario se detectó usando un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Dako, Glostrup, Denmark), adecuado al origen del primer anticuerpo, y un kit de aumento de quimioluminiscencia-HRP (ECL) (Luminol Reagent Santa Cruz Biotechnology). Para ello, una vez realizada la incubación con los anticuerpos primarios específicos y después de lavar las membranas 3 veces con PBS-T, durante 5 min, se incubaron con el anticuerpo secundario durante 1 h a RT, se volvieron a lavar 5 veces con PBS-T y para su revelado, se incubaron durante 1 min con ECL y se expusieron a películas fotográficas (Amersham Hyperfilm ECL, Amersham, Little Chalfont, Reino Unido). La cuantificación de la densidad de las bandas específicas se realizó mediante un densitómetro de imagen (Image J, Bethesda, MD, EE.UU.).

**Tabla 6. Anticuerpos primarios específicos utilizados en la técnica de Western Blot para detectar y cuantificar las proteínas.**

Proteína	P.M. (kDa)	Casa comercial	Conc.	Tiempo (min.)	A.C. 2 <sup>o</sup>	Conc.
PGC1 $\alpha$	90	Sta. Cruz	1:100	60-90	Mouse	1:5000
Mfn1	(75)84	Abcam	1:500	60-90	Rabbit	1:20000
OPA1	90/95	Abcam	1:1000	5	Rabbit	1:20000
Drp1	78/82	Cell S.	1:200	60-90	Rabbit	1:20000
p62	60	Cell S.	1:1000	60	Rabbit	1:20000
LC3	14-16	Cell S.	1:100	60-90	Rabbit	1:20000
Parkin	52/55	Abcam	1:1000	40	Rabbit	1:20000
PINK1	60	Abcam	1:1000	40	Rabbit	1:20000
VDAC1	32	Sta. Cruz	1:200	10	Goat	1:50000
Bnip3	35	Abcam	1:1000	60	Rabbit	1:20000
NIX	37	Abcam	1:1000	60-90	Rabbit	1:20000
B-actina	40	Sigma	1:20000	2	-	-

P.M.: peso molecular; Conc.: concentración; A.C.2<sup>o</sup>: Anticuerpo secundario; *Abcam*: *Abcam*® (Cambridge, UK); Cell S.: *Cell Signaling Technology*® (Beverly MA, EE.UU.); Sta. Cruz: *Santa Cruz Biotechnology*® (Santa Cruz, CA, EE.UU.); Sigma: *Sigma-Aldrich*® (St Louis, MO, EE.UU.).

#### 4.4. Procedimientos y protocolo de entrenamiento de fuerza

Los voluntarios pertenecientes al GC, durante la realización de este estudio, fueron orientados a mantener sus rutinas diarias de actividad física y ejercicio, con la única condición de que no realizaran ningún tipo de entrenamiento de fuerza.

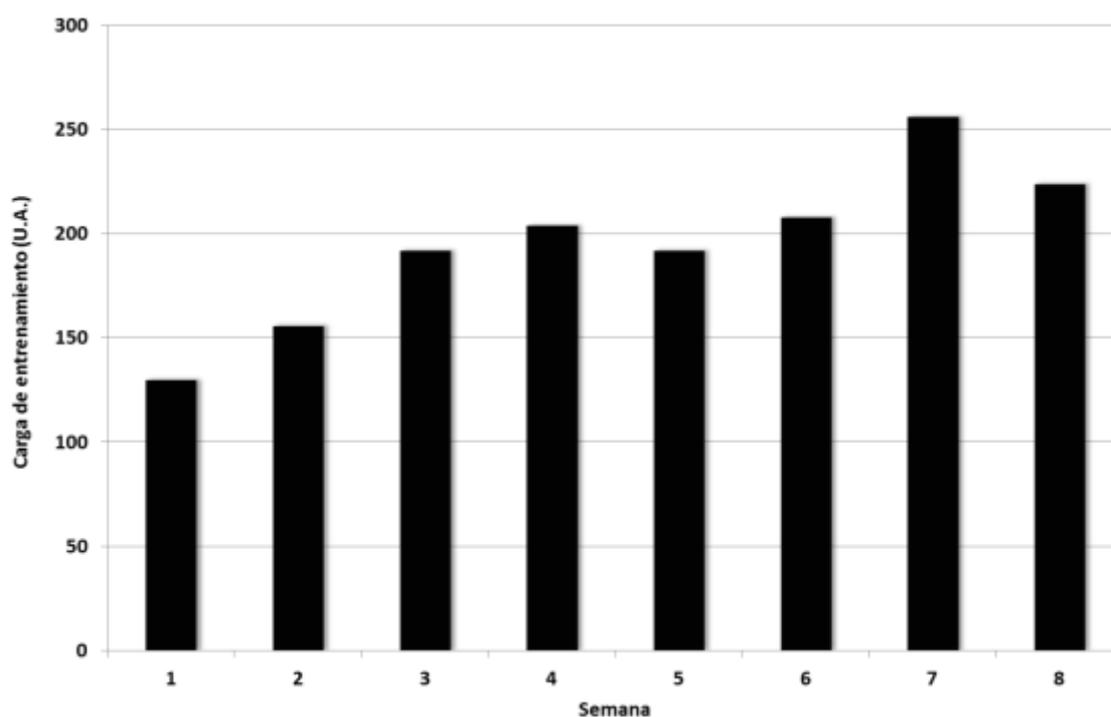
Los voluntarios pertenecientes al GF, fueron orientados a mantener sus rutinas diarias de actividad física y ejercicio, además de realizar un programa individualizado de entrenamiento de fuerza. Este programa tuvo la duración total de 8 semanas (16 sesiones), con frecuencia de 2 sesiones de entrenamiento por semana, con intervalo de recuperación de al menos 48h entre las sesiones. La duración del programa de entrenamiento, fue basada en otros estudios previamente ejecutados por nuestro grupo de investigación (Rodríguez-Miguel et al., 2014; Rodríguez-Miguel et al., 2015; Mejías-Peña et al., 2016), y la frecuencia fue elegida de acuerdo con el mínimo recomendado para promoción de la salud por el *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2009a; ACSM, 2009b; ACSM, 2011).

El programa de entrenamiento se inició una semana después de las evaluaciones iniciales y en cada sesión de entrenamiento comenzaba con un calentamiento estandarizado en cicloergómetro, seguido de ocho ejercicios de fuerza para los principales grupos musculares (ACSM, 2009a; ACSM, 2009b). Los ejercicios ejecutados fueron el *contractor* de pecho, la tracción en la polea alta, el *press* de piernas, la elevación lateral con mancuernas, el *curl* de bíceps en el banco, la extensión de tobillos, el *press* de banca en la máquina y la extensión de rodillas en la máquina. Los participantes realizaron 3 series de 8 y 12 repeticiones para cada ejercicio. La intensidad de entrenamiento fue definida por percepción subjetiva de esfuerzo, empezando en 5-6 y llegando hasta 7-8 en la escala OMNI-RES (0 a 10) (Robertson et al., 2003; Gearhart et al., 2011), según recomendaciones del *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2009a). El intervalo de recuperación entre las series de los ejercicios fue de 2-3 min y la velocidad de ejecución recomendada a los participantes fue

moderada, es decir, 2 segundos para la fase concéntrica de movimiento y 2 segundos para la fase excéntrica de movimiento (ACSM, 2009b). La progresión de las cargas de entrenamiento (volumen x intensidad) está representada en el tabla7 y en la figura 21.

**Tabla 7. Representación de las cargas de entrenamiento (volumen x intensidad) durante las ocho semanas de duración del programa de entrenamiento de fuerza.**

	Semana							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Volumen</b>	26	26	32	34	24	26	32	28
<b>Intensidad</b>	5	6	6	6	8	8	8	8

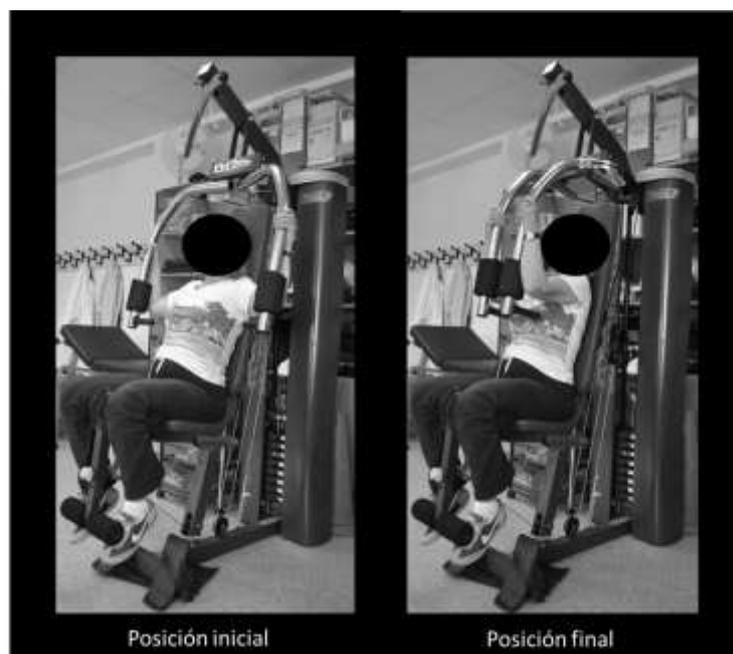


**Figura 21. Representación gráfica de la progresión de carga de entrenamiento en función de las 8 semanas de duración del programa de entrenamiento de fuerza.**

Los participantes recibieron instrucciones de ejecución estandarizadas, para la ejecución de cada uno de los 8 ejercicios que hicieron parte de este

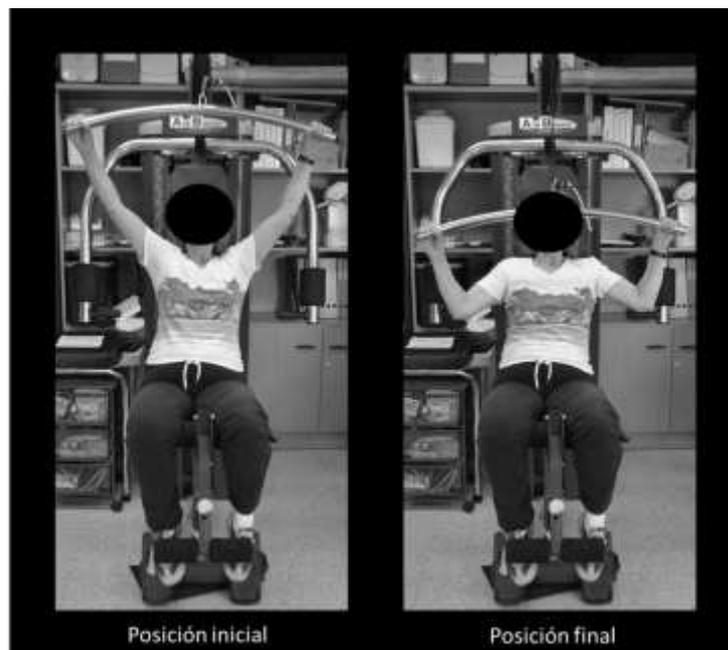
programa de entrenamiento de fuerza, de manera que todos los participantes pudiesen realizar los ejercicios con el mismo patrón, con el objetivo de disminuir los riesgos osteomioarticulares e incrementar la calidad de ejecución. Se solicitó a los voluntarios que de ninguna manera, realizaran la maniobra de Valsalva durante la ejecución de los ejercicios y siempre que fuera posible, realizaran la expiración en la fase concéntrica del movimiento y la inspiración en la fase excéntrica del movimiento. Las instrucciones de ejecución específicas para cada ejercicio fueron:

- a. **Contractor de pecho:** sentado en el aparato, con la espalda y la cabeza apoyadas en el respaldo, el abdomen contraído, los hombros en abducción de  $90^\circ$  en relación al tronco, los codos flexionados a  $90^\circ$  y los antebrazos apoyados en el mando del aparato (posición inicial), realizar la aducción horizontal de los hombros (posición final) y volver a la posición inicial, como se ilustra en la figura 22.



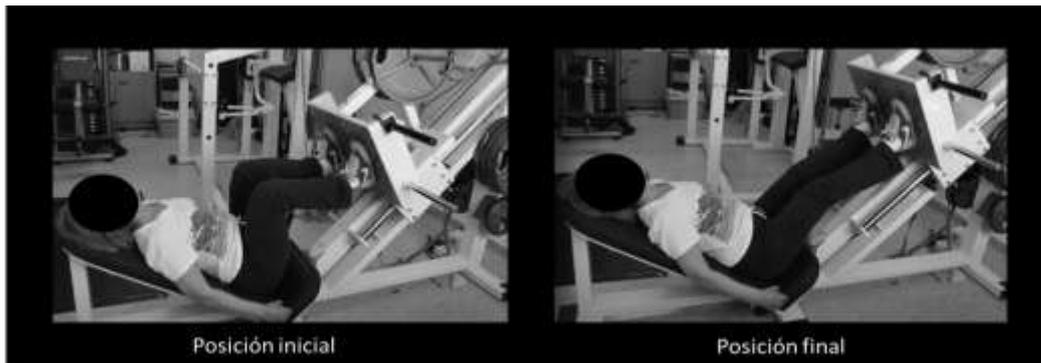
**Figura 22. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de contractor de pecho.**

- b. Tracción en la polea alta: sentado en el aparato, con la espalda y la cabeza apoyadas en el respaldo, el abdomen contraído, los hombros flexionados a  $180^{\circ}$  en relación al tronco, los codos extendidos y las manos posicionadas en el punto más distal de la barra del aparato, con agarre en pronación (posición inicial), realizar la aducción de los hombros conjuntamente con la flexión de los codos, bajando la barra hasta la línea de los ojos (posición final) y regresar a la posición inicial como se muestra en la figura 23.



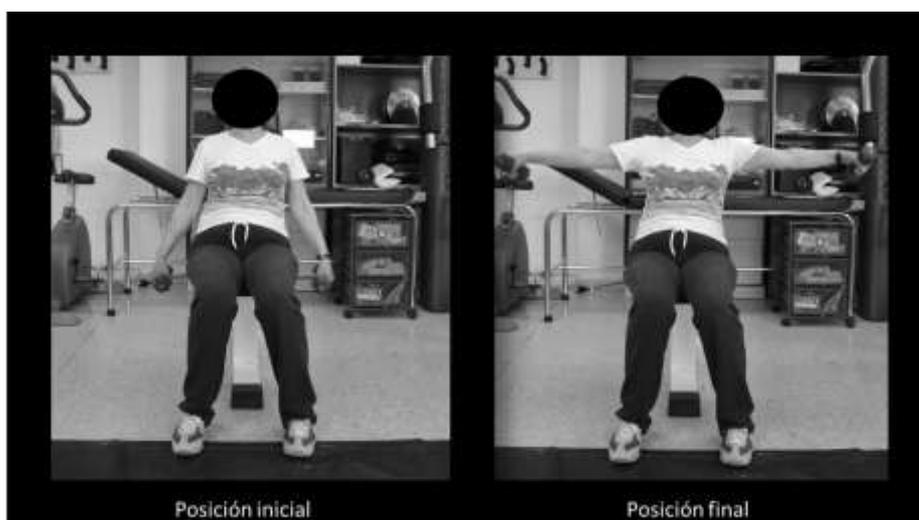
**Figura 23. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de tracción en la polea alta.**

- c. *Press* de piernas: sentado en el aparato, con la espalda y la cabeza apoyadas en el respaldo, el abdomen contraído, las caderas y las rodillas flexionadas a  $90^{\circ}$  y los pies separados a la anchura de la cadera y apoyados en la plataforma del aparato (posición inicial), realizar la extensión de cadera y rodillas (posición final) y regresar a la posición inicial, como se ilustra en la figura 24.



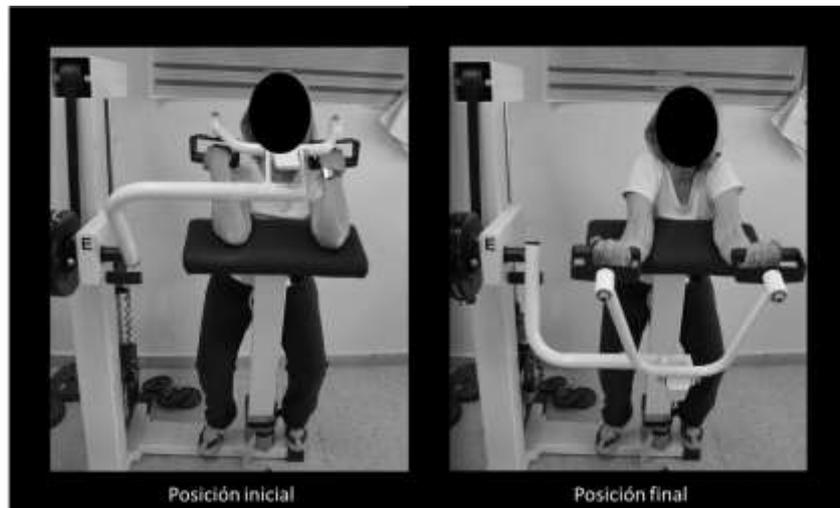
**Figura 24. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de *press* de piernas.**

- d. Elevación lateral con mancuernas: sentado en el banco, con la espalda y la cabeza apoyadas en el respaldo, el abdomen contraído, los brazos paralelos a la línea del tronco, con los codos extendidos y las mancuernas en las manos del ejecutante, en agarre neutro (posición inicial), realizar la abducción de los hombros hasta 90°, con los codos extendidos y las manos dirigidas hacia abajo (posición final) y regresar a la posición inicial, como se muestra en la figura 25.



**Figura 25. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de elevación lateral con mancuernas.**

- e. *Curl* de bíceps en el banco: sentado en el banco, con el pecho apoyado en el respaldo del aparato, los hombros y los codos flexionados a 90° y las manos apoyadas en el mando del aparato con agarre supino (posición inicial), realizar la extensión del codo (posición final) y regresar a la posición inicial, como se ilustra en la figura 26.



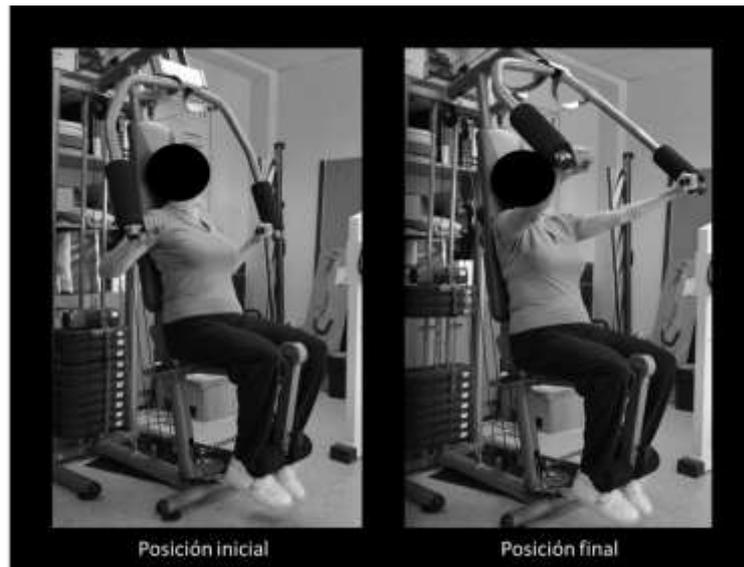
**Figura 26. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de *curl* de bíceps en el banco.**

- f. Extensión de tobillos: de pie, con la columna erecta, el abdomen y los glúteos contraídos, las rodillas extendidas y los pies separados a la anchura de la cadera y apoyados en el suelo (posición inicial), realizar la flexión plantar con extensión de los tobillos (posición final) y regresar a la posición inicial, como se muestra en la figura 27.



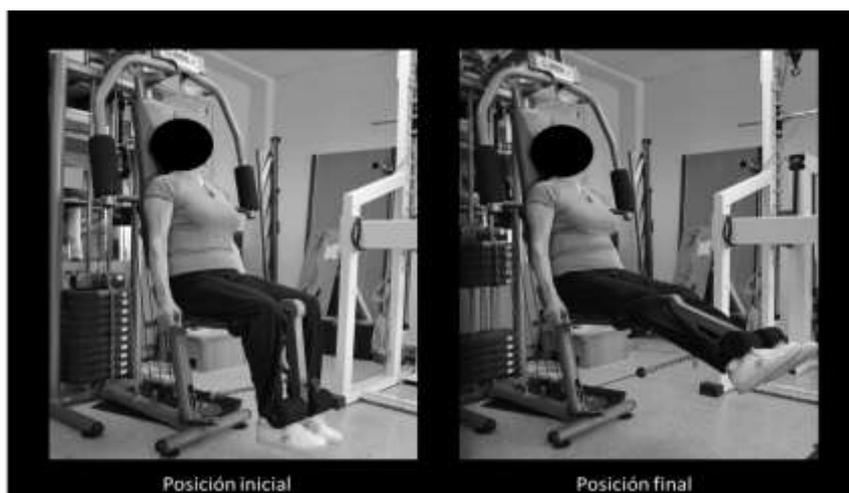
**Figura 27. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de extensión de tobillos.**

- g. *Press de banca en la máquina*: sentado en el aparato, con la espalda y la cabeza apoyadas en el respaldo, el abdomen contraído, los hombros en abducción de  $90^{\circ}$ , con los codos flexionados a  $90^{\circ}$  y las manos apoyadas en el mando del aparato con agarre en pronación (posición inicial), realizar la aducción horizontal de los hombros conjuntamente con la extensión de los codos (posición final) y regresar a la posición inicial, como se ilustra en la figura 28.



**Figura 28. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de *press* de banca en la máquina.**

- h. Extensión de rodillas en la máquina: sentado en el aparato, con la espalda y la cabeza apoyadas en el respaldo, el abdomen contraído, las caderas y las rodillas flexionadas a 90°, con el apoyo del aparato posicionado sobre los pies, a la altura de los tobillos (posición inicial), realizar la extensión de las rodillas (posición final) y regresar a la posición inicial, como se muestra en la figura 29.



**Figura 29. Ilustración de las posiciones inicial y final del ejercicio de extensión de rodillas en la máquina.**

#### **4.5. Análisis estadístico**

Todos los análisis estadísticos fueron realizados en el programa estadístico SPSS para Windows, versión 23 (IBM, Chicago, USA). Inicialmente los datos fueron sometidos a la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. A continuación, se hizo el análisis descriptivo de los datos, a través de la media y de la desviación estándar (DS).

Para determinar los cambios presentados durante la intervención se hicieron los cálculos de las diferencias entre los valores pre y post para cada variable, siendo expresados como delta absoluto ( $\Delta$ ).

Las comparaciones intragrupo fueron realizadas por medio de la prueba de Wilcoxon. Las comparaciones intergrupos fueron realizadas por medio de la prueba de Mann-Whitney. El tamaño del efecto fue calculado por medio de la prueba D de Cohen, con un intervalo de confianza de 95% (IC95%).

Para todos los tratamientos se estableció un nivel de significación estadística de  $p \leq 0,05$ .



## ***5. Resultados***

---



## 5. RESULTADOS

### 5.1. Descripción y características generales de la muestra

En la tabla 8 está expuesta las principales características sociodemográficas y antropométricas de los voluntarios evaluados. No fueron encontradas diferencias estadísticamente significantes entre los grupos para ninguna de las variables analizadas.

De todos los 48 voluntarios que empezaron el estudio tuvimos pérdidas de 1 voluntaria en el GF, por motivo ajeno al experimento (una caída) y 2 voluntarios en el GC, por motivo de recusar hacer la segunda evaluación.

En el GC se encontró edad media de  $73,80 \pm 2,34$  años, estatura media  $159 \pm 10$  cm y masa corporal media de  $72 \pm 9$  Kg. En el GF, la edad media fue  $73,72 \pm 2,15$  años, la estatura media fue  $163 \pm 10$  cm y la masa corporal media fue  $73 \pm 14$  Kg.

**Tabla 8. Características generales de la muestra seccionada por sexo, entre los dos grupos.**

	GC				GF			
	Hombres (n=06)		Mujeres (n=10)		Hombres (n=15)		Mujeres (n=14)	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Edad (años)	74,40	2,07	73,50	2,51	72,40	2,13	73,07	2,19
Estatura (cm)	171	7	155	7	169	7	156	6
Masa corporal (Kg)	78	4	70	10	84	10	62	6

### 5.2. Fuerza máxima

Los resultados obtenidos de la FMI y de la FMD en los ejercicios de extensión de rodillas (miembros inferiores) y press de banca (miembros superiores) están expuestos en la tabla 9.

No fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas, entre los grupos en ninguna de las manifestaciones de la fuerza analizadas antes de la intervención con el entrenamiento de fuerza.

En los resultados del GC, no fueron observados cambios significativos en ninguno de los test de fuerza realizados, tanto de FMI como de FMD, tras las ocho semanas. La única excepción fue la FMD de los miembros superiores que presentó una disminución tras el período evaluado.

Para el GF, fueron observados incrementos estadísticamente significativos en las manifestaciones de la fuerza tanto en miembros superiores, como en miembros inferiores, tras las ocho semanas de entrenamiento de fuerza.

**Tabla 9. Comparación intragrupo de las variables de FMI y FMD entre los momentos pre y post entrenamiento.**

		GC (n=16)			GF (n=29)			p-valor
		Media	DE	ES	Media	DE	ES	
FMI_MMSS (Kg)	pre	41,26	23,64	-16,65 (-1,02; 0,37)	48,47	23,15	45,60 (0,11;1,14)	0,545
	post	33,65	17,23		62,98	28,75***		
FMI_MMII (Kg)	pre	61,75	21,12	3,02 (-0,63; 0,75)	75,97	26,80	39,92 (-0,08; 0,95)	0,089
	post	62,98	15,33		87,62	29,48***		
FMD_MMSS (Kg)	pre	54,00	16,58	-37,50 (-1,36; 0,05)	54,97	24,85	53,65 (0,14; 1,18)	0,947
	post	43,14	8,28*		71,31	25,11***		
FMD_MMII (Kg)	pre	55,71	20,35	2,00 (-,066; 0,73)	70,93	25,60	54,71 (0,16; 1,20)	0,052
	post	56,44	11,38		88,28	26,42***		

FMI: fuerza máxima isométrica; FMD: fuerza máxima dinámica; MMII: miembros inferiores; MMSS: miembros superiores; ES: tamaño del efecto; \*: p<0,05 para comparación pre x post; \*\*\*: p<0,001 para comparación pre x post.

Comparados los dos grupos se observa que el GF presentó una diferencia absoluta entre los valores pre y post entrenamiento más elevado que el GC, como se ve en la tabla 10.

**Tabla 10. Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables de FMI y FMD entre los dos grupos.**

	GC (n=16)		GF (n=29)		p-Valor	ES
	Media	DE	Media	DE		
$\Delta$ _FMI_MMSS (Kg)	5,45	8,21	13,67	9,70	0,027	53,62 (0,38; 1,63)
$\Delta$ _FMI_MMII (Kg)	6,01	8,19	10,61	10,38	0,229	28,37 (-0,05; 1,18)
$\Delta$ _FMD_MMSS (Kg)	-6,00	5,80	15,31	7,69	<0,001	178,65 (2,90; 4,45)
$\Delta$ _FMD_MMII (Kg)	5,67	9,11	16,03	9,04	0,002	69,94 (0,51; 1,76)

$\Delta$ : diferencia absoluta entre los valores pre y post; FMI: fuerza máxima isométrica; FMD: fuerza máxima dinámica; MMII: miembros inferiores; MMSS: miembros superiores; ES: tamaño del efecto.

### 5.3. Potencia muscular

Los resultados relacionados con la potencia muscular de los voluntarios evaluados están presentados en la tabla 11. Estos resultados están divididos en desplazamiento, velocidad de ejecución, potencia media y potencia pico a cargas que varían del 40 al 80% de la 1RM.

Los resultados del GC, no demostraron cambios significativos en ninguna de las variables relacionadas con la potencia muscular tras las ocho semanas. Por otro lado, los resultados exhibidos en el GF indican cambios estadísticamente significativos en el desplazamiento a 40%, 50%, 60%, 70% y 80% de la 1RM, en la velocidad de ejecución a 70% de la 1RM y en las potencias media y pico en todas las cargas analizadas.

Comparados los dos grupos observamos que el GF presentó una diferencia absoluta entre los valores pre y post entrenamiento para las variables potencia media y potencia pico a 40% e 50% de la FMD, más elevado que el GC, como puede verse en la tabla 12. Para las otras variables y cargas de trabajo, no fueron verificadas diferencias estadísticamente significativas.

**Tabla 11. Comparación intragrupo de las variables relacionadas con la potencia muscular entre los momentos pre y post entrenamiento.**

		GC (n=16)			GF (n=29)			p-valor
		Media	DE	ES	Media	DE	ES	
Desp_40% (m)	pre	0,38	0,03		0,39	0,02		0,432
	post	0,38	0,02	0,00 (-0,85; 0,85)	0,38	0,03**	-0,50 (-1,02; 0,02)	
Vel_40% (m/s)	pre	0,80	0,12		0,82	0,10		0,922
	post	0,78	0,10	-0,17 (-1,02; 0,68)	0,79	0,09	-0,30 (-,082; 0,22)	
PM_40% (w)	pre	157,67	43,81		235,47	86,18		0,006
	post	179,33	46,45	0,49 (-0,36; 1,35)	284,24	89,36***	0,57 (0,05; 1,08)	
PP_40% (w)	pre	397,42	126,25		533,57	199,30		0,042
	post	369,56	99,64	-0,22 (-1,07; 0,63)	652,59	279,77***	0,60 (0,08; 1,12)	
Desp_50% (m)	pre	0,36	0,04		0,37	0,02		1,000
	post	0,35	0,01	-0,25 (-1,10; 0,60)	0,35	0,03**	-1,00 (-1,52; -0,48)	
Vel_50% (m/s)	pre	0,71	0,11		0,69	0,08		0,494
	post	0,63	0,07	-0,73 (-1,60; 0,14)	0,66	0,09	-0,37 (-0,89; 0,14)	
PM_50% (w)	pre	173,42	43,64		249,93	94,24		0,014
	post	181,22	47,19	0,18 (-0,67; 1,03)	298,52	97,69***	0,52 (0,00; 1,03)	
PP_50% (w)	pre	379,42	120,42		553,90	232,11		0,015
	post	362,33	95,68	-0,14 (-0,99; 0,71)	640,38	240,56**	0,37 (-0,14; 0,89)	
Desp_60% (m)	pre	0,34	0,04		0,35	0,03		0,634
	post	0,32	0,03	-0,50 (-1,36; 0,36)	0,33	0,03**	-0,67 (-1,19; -0,15)	
Vel_60% (m/s)	pre	0,61	0,10		0,60	0,09		0,954
	post	0,55	0,07	-0,60 (-1,46; 0,26)	0,56	0,09	-0,44 (-0,96; 0,07)	
PM_60% (w)	pre	174,92	36,61		255,45	90,88		0,015
	post	186,78	39,25	0,32 (-0,53; 1,18)	303,86	109,50***	0,53 (0,02; 1,05)	
PP_60% (w)	pre	355,83	81,85		562,93	211,12		0,007
	post	377,00	89,64	0,26 (-0,59; 1,11)	745,45	443,26**	0,86 (0,34; 1,39)	
Desp_70% (m)	pre	0,32	0,04		0,32	0,03		0,705
	post	0,28	0,02	-1,00 (-1,89; -0,11)	0,29	0,03**	-1,00 (-1,52; -0,48)	
Vel_70% (m/s)	pre	0,52	0,10		0,49	0,07		0,395
	post	0,44	0,07	-0,80 (-1,67; 0,07)	0,45	0,09*	-0,57 (-1,09; -0,05)	
PM_70% (w)	pre	174,42	33,44		246,27	95,19		0,051
	post	176,00	41,62	0,05 (-0,80; 0,90)	286,41	111,95**	0,42 (-0,09; 0,94)	
PP_70% (w)	pre	345,67	89,93		534,43	244,59		0,017
	post	377,89	168,69	0,36 (-0,50; 1,21)	632,10	250,91**	0,40 (-0,12; 0,92)	
Desp_80% (m)	pre	0,29	0,05		0,29	0,04		0,737
	post	0,24	0,03	-1,00 (-1,89; -0,11)	0,26	0,04**	-0,75 (-1,27; -0,23)	
Vel_80% (m/s)	pre	0,41	0,14		0,41	0,11		0,831
	post	0,33	0,07	-0,57 (-1,43; 0,29)	0,36	0,08	-0,45 (-0,97; 0,06)	
PM_80% (w)	pre	152,50	42,10		227,15	100,01		0,038
	post	152,67	42,56	0,00 (-0,85; 0,85)	267,14	113,90*	0,40 (-0,12; 0,92)	
PP_80% (w)	pre	348,25	192,73		504,04	272,21		0,057
	post	299,00	86,33	-0,26 (-1,11; 0,60)	809,69	830,57*	1,12 (0,60; 1,65)	

Desp.: desplazamiento; Vel.: velocidad; PM: potencia media; PP: potencia pico; ES: tamaño del efecto; \*: p<0,05 para comparación pre x post; \*\*: p<0,01 para comparación pre x post; \*\*\*: p<0,001 para comparación pre x post.

**Tabla 12. Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables relacionadas con la potencia muscular entre los dos grupos.**

	GC (n=16)		GF (n=29)		p-Valor	ES
	Media	DE	Media	DE		
$\Delta$ _Desp_40% (m)	0,00	0,03	-0,01	0,03	0,289	-0,33 (-0,95; 0,28)
$\Delta$ _Vel_40% (m/s)	-0,01	0,11	-0,03	0,10	0,823	-0,18 (-0,79; 0,43)
$\Delta$ _PM_40% (w)	18,11	25,63	44,55	26,86	0,027	1,03 (0,41; 1,66)
$\Delta$ _PP_40% (w)	-53,44	147,47	114,90	125,28	0,002	1,14 (0,51; 1,77)
$\Delta$ _Desp_50% (m)	-0,01	0,04	-0,01	0,02	0,755	0,00 (-0,61; 0,61)
$\Delta$ _Vel_50% (m/s)	-0,06	0,10	-0,02	0,10	0,371	0,40 (-0,21; 1,01)
$\Delta$ _PM_50% (w)	8,33	25,38	44,79	43,63	0,005	1,44 (0,80; 2,07)
$\Delta$ _PP_50% (w)	-3,89	67,36	79,28	118,32	0,039	1,23 (0,60; 1,87)
$\Delta$ _Desp_60% (m)	-0,02	0,04	-0,02	0,03	0,669	0,00 (-0,61; 0,61)
$\Delta$ _Vel_60% (m/s)	-0,02	0,08	-0,04	0,09	0,559	-0,25 (-0,86; 0,36)
$\Delta$ _PM_60% (w)	17,11	23,65	47,82	43,08	0,083	1,30 (0,67; 1,93)
$\Delta$ _PP_60% (w)	32,44	39,87	188,39	407,09	0,063	3,91 (3,12; 4,70)
$\Delta$ _Desp_70% (m)	-0,02	0,04	-0,02	0,04	0,917	0,00 (-0,61; 0,61)
$\Delta$ _Vel_70% (m/s)	-0,06	0,13	-0,04	0,10	0,770	0,15 (-0,46; 0,76)
$\Delta$ _PM_70% (w)	5,11	35,40	36,07	55,36	0,135	0,87 (0,25; 1,50)
$\Delta$ _PP_70% (w)	40,89	143,61	88,45	240,03	0,127	0,33 (-0,28; 0,94)
$\Delta$ _Desp_80% (m)	-0,04	0,05	-0,03	0,04	0,719	0,20 (-0,41; 0,81)
$\Delta$ _Vel_80% (m/s)	-0,05	0,14	-0,04	0,12	0,777	0,07 (-0,54; 0,68)
$\Delta$ _PM_80% (w)	5,11	35,40	36,07	55,36	0,135	0,87 (0,25; 1,50)
$\Delta$ _PP_80% (w)	-54,33	203,16	330,54	800,97	0,163	1,89 (1,24; 2,55)

$\Delta$ : diferencia absoluta entre los valores pre y post; Desp.: desplazamiento; Vel.: velocidad; PM: potencia media; PP: potencia pico; ES: tamaño del efecto.

#### 5.4. Capacidad funcional

Los resultados obtenidos en las pruebas de capacidad funcional están expuestos en la tabla 13.

No fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas, entre los grupos en ninguna de las pruebas de capacidad funcional evaluadas antes de la intervención con el entrenamiento de fuerza, con excepción de la FPM, que se presentó más elevada en el GF.

En los resultados del GC, no fueron observados cambios significativos en ninguna de las pruebas de capacidad funcional, tras las ocho semanas.

Para el GF, fueron observadas mejorías estadísticamente significativas en todas las pruebas de capacidad funcional, tras las ocho semanas de entrenamiento de fuerza. La única excepción fue la FPM que no demostró mejora, tras la realización del programa de entrenamiento.

**Tabla 13. Comparación intragrupo de las variables relacionadas con la capacidad funcional entre los momentos pre y post entrenamiento.**

		GC (n=16)			GF (n=29)			p-valor
		Media	DE	ES	Media	DE	ES	
8FUG (s)	pre	5,01	0,74		4,93	0,76		0,437
	post	5,16	0,91	0,20 (-,066; 1,06)	4,25	0,41***	-0,89 (-1,42; -0,37)	
30CST (rep)	pre	20,64	5,60		18,60	4,64		0,318
	post	19,88	5,77	-0,14 (-0,99; 0,72)	22,93	3,78***	0,93 (0,41; 1,46)	
ACT (rep)	pre	18,92	4,80		17,07	3,44		0,101
	post	21,13	3,48	0,46 (-0,41; 1,33)	22,76	3,28***	1,65 (1,12; 2,19)	
2MST (rep)	pre	110,36	21,12		116,87	22,05		0,427
	post	117,00	20,17	0,31 (-0,55; 1,18)	144,72	19,21***	1,26 (0,73; 1,79)	
FPM (kgf)	pre	22,55	3,93		30,10	9,45		0,022
	post	20,67	1,94	(-0,48 (-1,34; 0,39)	30,55	9,35	0,05 (-0,47; 0,56)	

8FUG: 8 foot up-and-go test; 30CST: 30s – chair stand test; ACT: arm curl test; 2MST: 2 minutes step test; ES: tamaño del efecto; \*\*\*: p<0,001 para comparación pre x post.

Comparados los dos grupos se observa que el GF presentó diferencia absoluta entre los valores pre y post entrenamiento en todas las pruebas de capacidad funcional evaluadas, con excepción de la FPM.

**Tabla 14. Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables relacionadas con la capacidad funcional entre los dos grupos.**

	GC (n=16)		GF (n=29)		p-Valor	ES
	Media	DE	Media	DE		
$\Delta$ _8FUG (s)	0,11	0,68	-0,58	0,40	0,005	-1,01 (-1,82; -0,21)
$\Delta$ _30CST (rep)	-0,63	4,37	4,17	3,73	0,009	1,10 (0,29; 1,91)
$\Delta$ _ACT (rep)	1,63	3,81	5,59	3,27	0,012	1,04 (0,23; 1,84)
$\Delta$ _2MST (rep)	5,33	11,64	26,31	13,45	0,004	1,80 (0,95; 2,65)
$\Delta$ _FPM (kgf)	-1,13	2,03	0,10	3,24	0,240	0,61 (-0,18; 1,40)

$\Delta$ : diferencia absoluta entre los valores pre y post; 8FUG: 8 foot up-and-go test; 30CST: 30s – chair stand test; ACT: arm curl test; 2MST: 2 minutes step test; ES: tamaño del efecto.

## 5.5. Composición corporal y salud ósea

Los resultados relacionados con la composición corporal y la salud ósea están expuestos en la tabla 15. Es posible observar que no fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas, entre los grupos en ninguna de las variables evaluadas antes de la intervención con el entrenamiento de fuerza.

En los resultados del GC, no fueron observados cambios significativos en ninguna de las variables de composición corporal y salud ósea, tras las ocho

semanas. Para el GF, fueron observados disminuciones en la masa grasa corporal total, de los brazos, de la pierna derecha y de la masa grasa ginecoide. Además, también se observó un incremento en la masa magra de la pierna izquierda, tras las ocho semanas de entrenamiento de fuerza.

**Tabla 15. Comparación intragrupo de las variables relacionadas con la composición corporal y la salud ósea entre los momentos pre y post entrenamiento.**

		GC (n=16)			GF (n=29)			p-valor
		Media	DE	ES	Media	DE	ES	
DMO_F (g/cm <sup>2</sup> )	pre	0,96	0,14		0,93	0,16		0,537
	post	0,93	0,13	-0,21 (-1,06; 0,64)	0,94	0,16	0,06 (-0,45; 0,58)	
CMO_F (g)	pre	33,64	6,72		33,17	8,09		0,801
	post	30,67	4,57	-0,44 (1,30; 0,41)	33,92	8,13	0,09 (-0,42; 0,61)	
Tscore_F (u.a.)	pre	-0,54	1,14		-0,94	1,09		0,279
	post	-0,55	1,13	-0,01 (-0,86; 0,84)	-0,88	1,07	0,06 (-0,46; 0,57)	
Zscore_F (u.a.)	pre	0,80	1,08		0,31	0,99		0,241
	post	0,78	0,96	-0,02 (-0,87; 0,83)	0,35	0,95	0,04 (-0,47; 0,56)	
MM_CT (kg)	pre	40,99	7,74		45,41	10,06		0,208
	post	39,12	5,56	-0,24 (-1,09; 0,61)	46,62	10,16	0,12 (-0,39; 0,64)	
MG_CT (kg)	pre	25,96	8,49		23,73	6,05		0,364
	post	29,58	7,11	0,43 (-0,43; 1,28)	23,16	6,13**	-0,09 (-0,61; 0,42)	
CMO_CT (kg)	pre	2,37	0,48		2,44	0,53		0,762
	post	2,29	0,50	-0,17 (-1,02; 0,68)	2,47	0,53	0,06 (-0,46; 0,57)	
MCT (kg)	pre	69,33	10,66		71,58	13,09		0,579
	post	70,98	11,10	0,15 (-0,69; 1,00)	72,26	12,99	0,05 (-0,46; 0,57)	
MM_BrDch (kg)	pre	2,38	0,60		2,60	0,78		0,545
	post	2,04	0,22	-0,57 (-1,43; 0,29)	2,66	0,70	0,08 (-0,44; 0,59)	
MM_Brlzq (kg)	pre	2,20	0,60		2,42	0,72		0,450
	post	1,82	0,30	-0,63 (-1,50; 0,23)	2,43	0,64	0,01 (-0,50; 0,53)	
MM_PieDch (kg)	pre	6,39	1,36		7,14	1,66		0,166
	post	6,17	0,79	-0,16 (-1,01; 0,69)	7,49	1,73	0,21 (-0,30; 0,73)	
MM_Pielzq (kg)	pre	6,33	1,39		6,92	1,66		0,326
	post	5,95	0,69	-0,27 (-1,12; 0,58)	7,31	1,84*	0,23 (-0,28; 0,75)	
MG_BrDch (kg)	pre	1,42	0,63		1,17	0,35		0,208
	post	1,45	0,36	0,05 (-0,80; 0,90)	1,11	0,33**	-0,17 (-0,69; 0,34)	
MG_Brlzq (kg)	pre	1,30	0,56		1,10	0,36		0,174
	post	1,27	0,25	-0,05 (-0,90; 0,80)	1,02	0,33**	-0,22 (-0,74; 0,29)	
MG_PieDch (kg)	pre	3,87	1,57		3,22	1,02		0,217
	post	4,66	1,18	0,50 (-0,35; 1,36)	3,13	1,05*	-0,09 (-0,60; 0,43)	
MG_Pielzq (kg)	pre	3,81	1,51		3,10	0,97		0,118
	post	4,52	1,20	0,47 (-0,39; 1,33)	3,03	1,01	-0,07 (-0,59; 0,44)	
MGA (kg)	pre	2,74	0,95		2,62	0,92		0,614
	post	2,98	0,95	0,25 (-0,60; 1,10)	2,57	0,92	-0,05 (-0,57; 0,46)	
MGG (kg)	pre	4,24	1,58		3,79	0,97		0,351
	post	4,97	1,04	0,46 (-0,39; 1,32)	3,51	0,98**	-0,29 (-0,80; 0,23)	

DMO: densidad mineral ósea; CMO: contenido mineral óseo; MM: masa magra; MG: masa grasa; MCT: masa corporal total; CT: cuerpo total; F: fémur; BrDch; brazo derecho; Brlzq: brazo izquierdo; PieDch: pierna derecha; Pielzq: pierna izquierda; MGA: masa grasa androide; MGG: masa grasa ginecoide; ES: tamaño del efecto; \*: p<0,05 para comparación pre x post; \*\*: p<0,01 para comparación pre x post.

Comparados los dos grupos, solamente fue posible verificar diferencia estadísticamente significativa en la diferencia absoluta entre los valores pre y post entrenamiento para la variable masa grasa androide. Para todas las otras variables no fueron verificadas diferencias estadísticamente significativas (Tabla 16).

**Tabla 16. Comparación de las diferencias absolutas (delta absoluto) de los valores pre y post tratamiento para las variables relacionadas con la composición corporal y la salud ósea entre los dos grupos.**

	GC (n=16)		GF (n=29)		p-Valor	ES
	Media	DE	Media	DE		
DMO_F (g/cm <sup>2</sup> )	0,02	0,04	0,00	0,02	0,674	-0,50 (-1,11; 0,11)
CMO_F (g)	0,89	2,48	0,22	0,91	0,984	-0,27 (-0,88; 0,34)
Tscore_F (u.a.)	0,13	0,28	0,00	0,15	0,665	-0,46 (-1,08; 0,15)
Zscore_F (u.a.)	0,13	0,29	0,01	0,15	0,726	-0,41 (-1,03; 0,20)
MM_CT (kg)	0,16	0,38	0,19	0,89	0,724	0,08 (-0,53; 0,69)
MG_CT (kg)	0,08	0,47	-0,62	0,96	0,071	-1,49 (-2,13; -0,85)
CMO_CT (kg)	0,00	0,04	-0,02	0,05	0,455	-0,50 (-1,11; 0,11)
MCT (kg)	0,23	0,48	-0,44	1,24	0,099	-1,40 (-2,03; -0,76)
MM_BrDch (kg)	-0,13	0,27	-0,04	0,21	0,289	0,33 (-0,28; 0,95)
MM_Brlzq (kg)	-0,14	0,32	-0,08	0,20	0,753	0,19 (-0,42; 0,80)
MM_PieDch (kg)	0,05	0,22	0,20	0,51	0,432	0,68 (0,07; 1,30)
MM_Pielzq (kg)	-0,01	0,36	0,25	0,52	0,126	0,72 (0,10; 1,34)
MG_BrDch (kg)	-0,17	0,37	-0,06	0,11	0,844	0,30 (-0,31; 0,91)
MG_Brlzq (kg)	-0,20	0,39	-0,08	0,11	0,875	0,31 (-0,30; 0,92)
MG_PieDch (kg)	-0,10	0,25	-0,01	0,33	0,610	0,36 (-0,25; 0,97)
MG_Pielzq (kg)	-0,11	0,21	0,02	0,35	0,432	0,62 (0,00; 1,23)
MGA (kg)	0,12	0,17	-0,11	0,33	0,023	-1,35 (-1,99; -0,72)
MGG (kg)	-0,18	0,28	-0,22	0,26	0,753	-0,14 (-0,75; 0,47)

DMO: densidad mineral ósea; CMO: contenido mineral óseo; MM: masa magra; MG: masa grasa; MCT: masa corporal total; CT: cuerpo total; F: fémur; BrDch; brazo derecho; Brlzq: brazo izquierdo; PieDch: pierna derecha; Pielzq: pierna izquierda; MGA: masa grasa androide; MGG: masa grasa ginecoide; ES: tamaño del efecto.

## 5.6. Proteínas de señalización de la mitofagia

### 5.6.1. Efecto del envejecimiento en las proteínas de señalización de la mitofagia

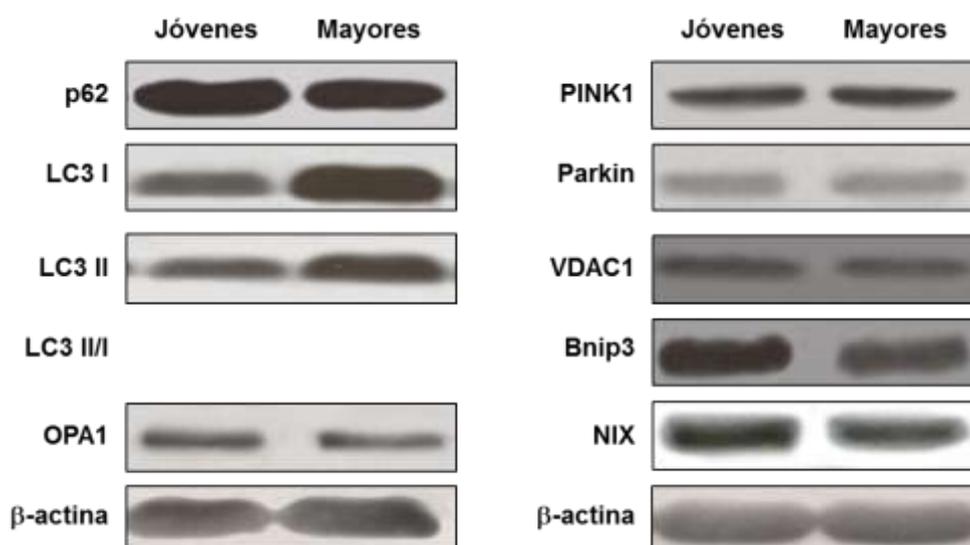
Aunque existen investigaciones que asocian el envejecimiento con un descenso de la mitofagia (Mejías-Peña et al., 2016), el presente estudio tuvo como objetivo comparar la actividad mitofágica entre jóvenes y personas mayores. Para ello, fueron analizadas proteínas de dinámica mitocondrial, macroautofagia y de las dos principales vías del flujo mitofágico, en un grupo

de varones jóvenes y en un grupo de varones mayores, para comparaciones entre estos dos grupos, ambos en condiciones basales. En la tabla 17 se puede observar que los ancianos presentan niveles significativamente menores para las proteínas p62, VDAC1 y NIX, además de presentar niveles aumentados de LC3 I y II. No obstante, también es posible observar que existe una tendencia a la disminución de la actividad de OPA1, indicando menor fusión mitocondrial, de PINK1, Parkin y Bnip3, indicando también, un fallo en las dos principales vías de mitofagia en los varones mayores.

**Tabla 17. Comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre varones jóvenes y mayores.**

	Jóvenes (n=11)		Mayores (n=8)		p-valor	ES
	Media	DE	Media	DE		
p62 (%)	100,00	18,98	68,01	13,60	0,048	-1,69 (-2,72; -0,65)
LC3I (%)	85,07	30,46	142,83	40,26	0,048	1,90 (0,83; 2,97)
LC3II (%)	85,58	48,34	147,16	41,14	0,021	1,27 (0,29; 2,26)
LC3II/I (%)	1,04	0,23	0,94	0,17	0,967	-0,43 (-1,35; 0,48)
OPA1 (%)	100,00	36,25	76,92	20,36	0,248	-0,64 (-1,57; 0,29)
PINK1 (%)	100,00	46,52	73,03	10,45	0,563	-0,58 (-1,51; 0,35)
Parkin (%)	114,25	32,72	90,14	10,99	0,247	-0,74 (-1,67; 0,20)
VDAC1 (%)	100,00	41,56	64,12	17,01	0,117	-0,86 (-1,81; 0,08)
Bnip3 (%)	100,00	23,06	77,67	32,87	0,013	-0,97 (-1,92; -0,01)
NIX (%)	100,00	18,36	52,23	18,92	0,02	-2,60 (-3,79; -1,41)

ES: tamaño del efecto; \*:  $p < 0,05$  para comparación Jóvenes x Mayores.



**Figura 30. Western blots representativos de la cuantificación densitométrica de la comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre varones jóvenes y mayores.**

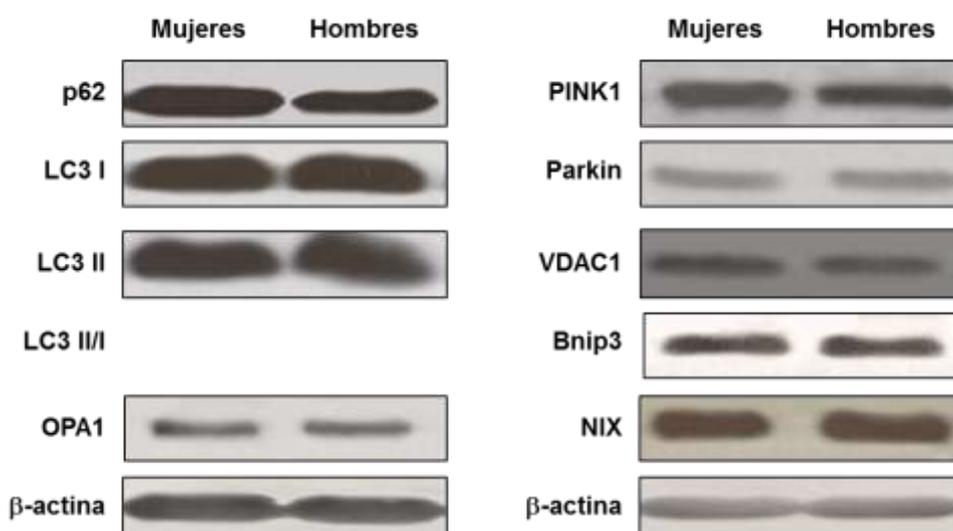
### 5.6.2. Efecto del sexo en las proteínas de señalización de la mitofagia

Por no haber encontrado datos que comparasen la mitofagia entre los sexos, otro objetivo del presente estudio fue comparar la actividad mitofágica entre hombres y mujeres mayores. Los voluntarios fueron evaluados en condiciones basales para comparar los resultados entre los dos grupos. En la tabla 18 se puede observar que no fueron encontradas diferencias entre los sexos en ninguna de las proteínas analizadas.

**Tabla 18. Comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre mujeres y hombres mayores.**

	Mujeres (n=8)		Hombres (n=8)		p-valor	ES
	Media	DE	Media	DE		
p62 (%)	121,91	36,40	68,01	13,60	0,059	-1,48 (-2,59; -0,37)
LC3I (%)	153,71	30,88	142,83	40,26	0,674	-0,35 (-1,34; 0,64)
LC3II (%)	135,21	34,78	147,16	41,14	1,000	0,34 (-0,64; 1,33)
LC3II/I (%)	0,93	0,32	0,94	0,17	0,599	0,03 (-0,95; 1,01)
OPA1 (%)	80,57	13,29	76,92	20,36	0,401	-0,27 (-1,26; 0,71)
PINK1 (%)	80,83	12,76	73,03	10,45	1,000	-0,61 (-1,61; 0,39)
Parkin (%)	86,59	20,47	90,14	10,99	0,916	0,17 (-0,81; 1,16)
VDAC1 (%)	82,38	11,48	64,12	17,01	0,115	-1,59 (-2,71; -0,47)
Bnip3 (%)	86,92	23,28	77,67	32,87	0,172	-0,40 (-1,39; 0,59)
NIX (%)	48,78	16,16	52,23	18,92	0,529	0,21 (-0,77; 1,20)

ES: tamaño del efecto.



**Figura 31. Western blots representativos de la cuantificación densitométrica de la comparación de los valores relativos de las proteínas de señalización de la mitofagia entre mujeres y hombres mayores.**

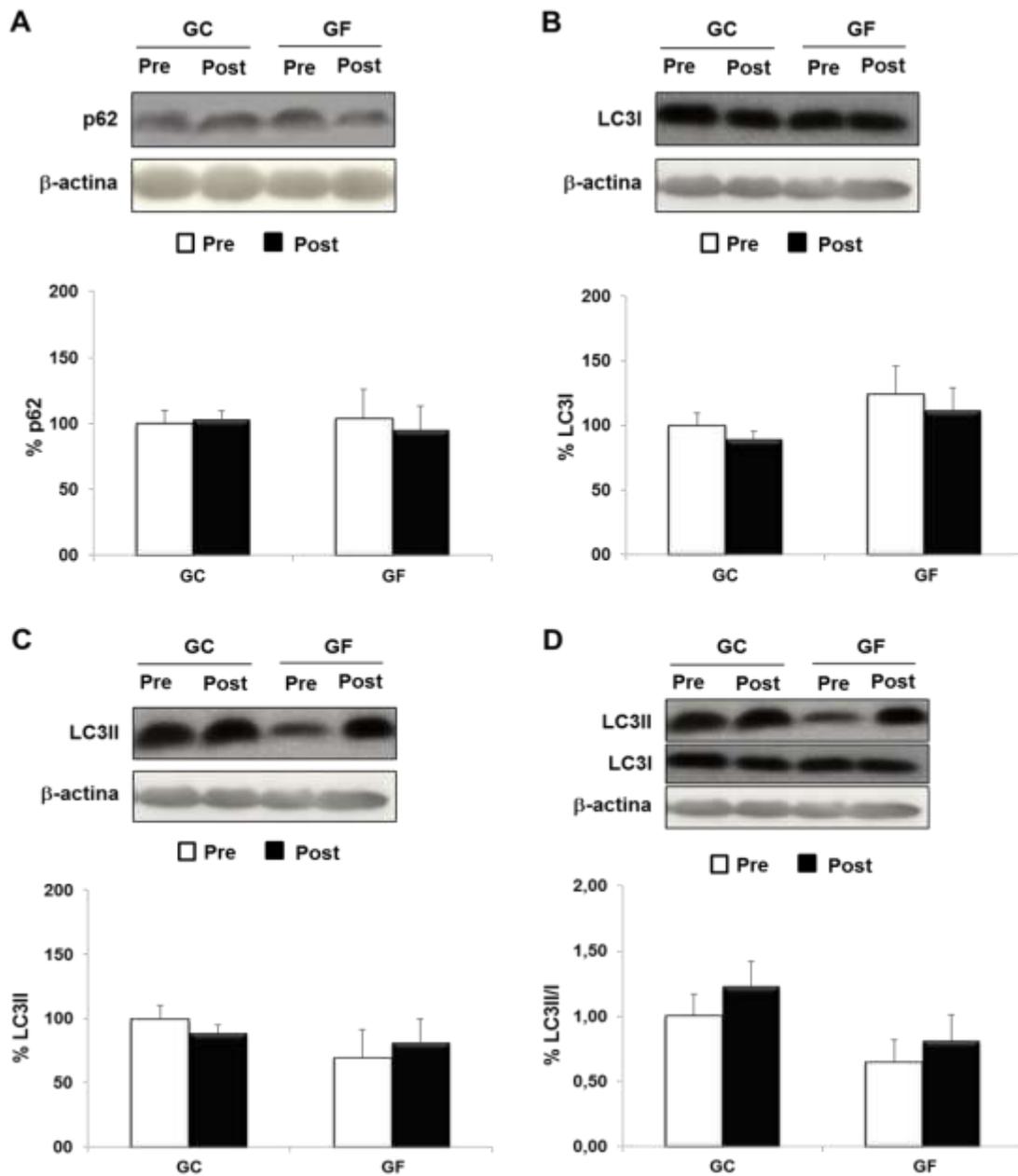
### 5.6.3. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de señalización de la mitofagia

Para comparación del efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de señalización de la mitofagia, con objetivo de realizar un análisis más detallado sobre el efecto del entrenamiento de fuerza, estas fueron subdivididas en cuatro categorías: proteínas relacionadas con la macroautofagia, proteínas de dinámica mitocondrial, proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin y proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3.

En este apartado los resultados serán presentados según este orden.

#### 5.6.3.1. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de macroautofagia

En la figura 32 están presentados los resultados pre y post intervención de las proteínas relacionadas con la macroautofagia en los dos grupos evaluados. No fueron encontrados cambios para la comparación intragrupo en estas proteínas.



**Figura 32. Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de macroautofagia p62 (A), LC3I (B), LC3II (C) y LC3II/I (D) en PBMC de personas mayores.**

Los valores se presentan como la media  $\pm$  EEM. Grupo control (GC) y grupo entrenamiento de fuerza (GF).

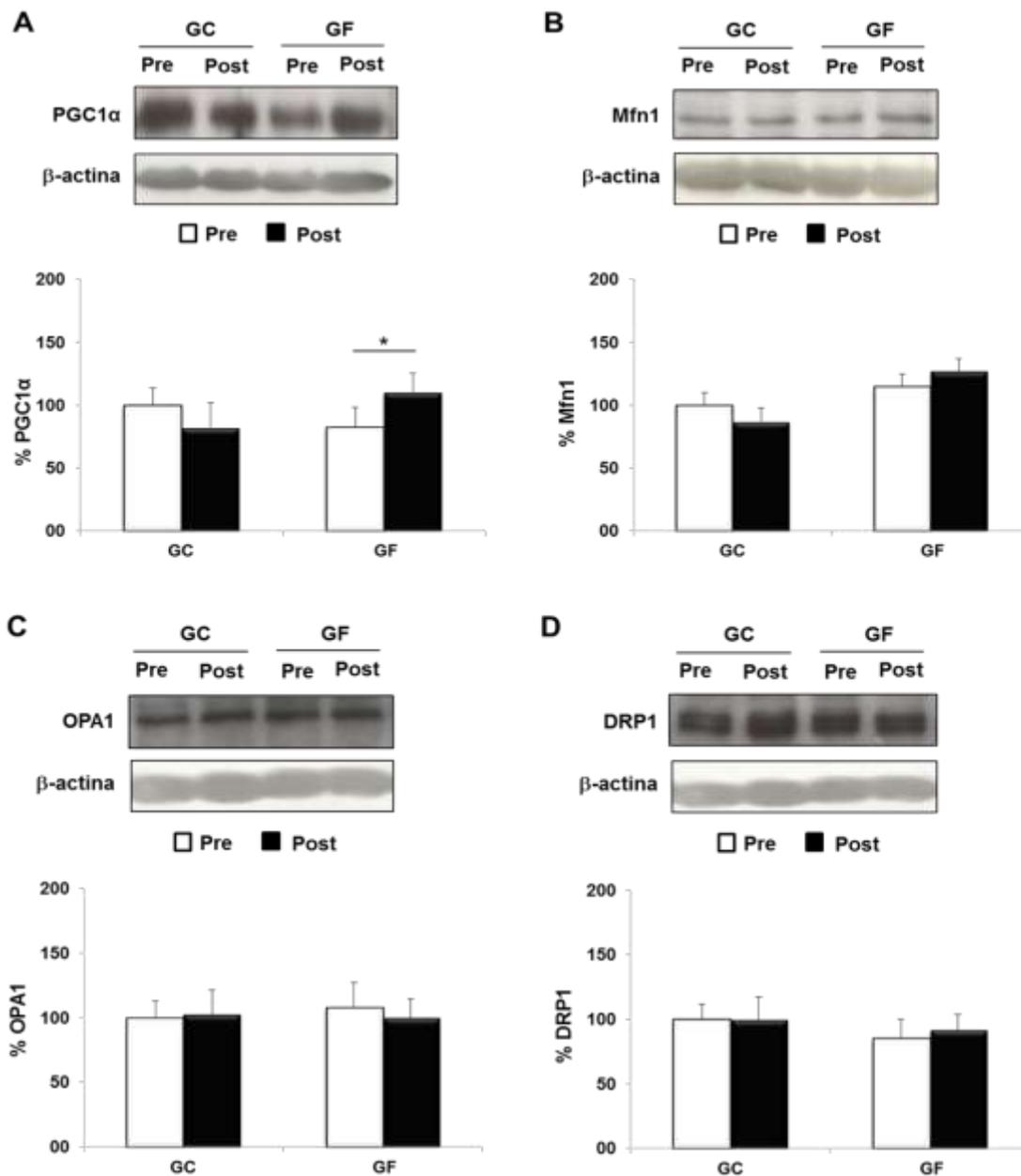
Igualmente, no fueron observadas diferencias estadísticamente significativas para la comparación intergrupo, como se puede ver en la tabla 19.

**Tabla 19. Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre las proteínas de macroautofagia en PBMC de personas mayores sometidas a un programa de entrenamiento de fuerza.**

	GC		GF		p-valor	ES
	Media	EEM	Media	EEM		
$\Delta$ _p62 (u.a.)	3,40	10,33	-8,55	16,88	0,372	-1,16 (-2,09; -0,22)
$\Delta$ _LC3I (u.a.)	-10,50	13,38	-12,39	22,56	0,715	-0,14 (-1,02; 0,74)
$\Delta$ _LC3II (u.a.)	-11,16	26,17	12,35	9,70	0,180	0,90 (-0,02; 1,81)
$\Delta$ _LC3II/I (u.a.)	0,22	0,19	0,16	0,18	0,855	-0,32 (-1,20; 0,57)

#### 5.6.3.2. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de dinámica mitocondrial

En la figura 33 están presentados los resultados pre y post intervención de las proteínas relacionadas con la dinámica mitocondrial PGC1 $\alpha$ , Mfn1, OPA1 y DRP1 en los dos grupos evaluados. Es posible observar que en el GF hubo un incremento estadísticamente significativo en la expresión de PGC1 $\alpha$  ( $p=0,05$ ). No fueron observados cambios en ninguna proteína relacionada con la dinámica mitocondrial en el GC, así como en las proteínas Mfn1, OPA1 y DRP1 en el GF. Tampoco, se observó diferencias en estas proteínas para la comparación intergrupo, como se muestra en la tabla 20.



**Figura 33. Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de dinámica mitocondrial PGC1α (A), Mfn1 (B), OPA1 (C) y DRP1 (D) en PBMC de personas mayores.**

Los valores se presentan como la media  $\pm$  EEM. Grupo control (GC) y grupo entrenamiento de fuerza (GF). \*:  $p \leq 0,05$  para comparación entre los valores pre y post entrenamiento.

**Tabla 20. Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre la proteína de dinámica mitocondrial en PBMC de personas mayores sometidas a un programa de entrenamiento de fuerza.**

	GC		GF		p-valor	ES
	Media	EEM	Media	EEM		
$\Delta$ _PGC1 $\alpha$ (u.a.)	-27,75	13,11	17,69	17,44	0,074	3,47 (2,16; 4,77)
$\Delta$ _Mfn1 (u.a.)	-11,82	12,36	12,95	9,54	0,160	2,00 (0,96; 3,05)
$\Delta$ _OPA1 (u.a.)	2,50	6,59	-8,16	6,61	0,175	-1,62 (-2,61; -0,63)
$\Delta$ _Drp1 (u.a.)	-6,22	5,88	0,52	10,37	0,382	1,15 (0,21; 2,08)

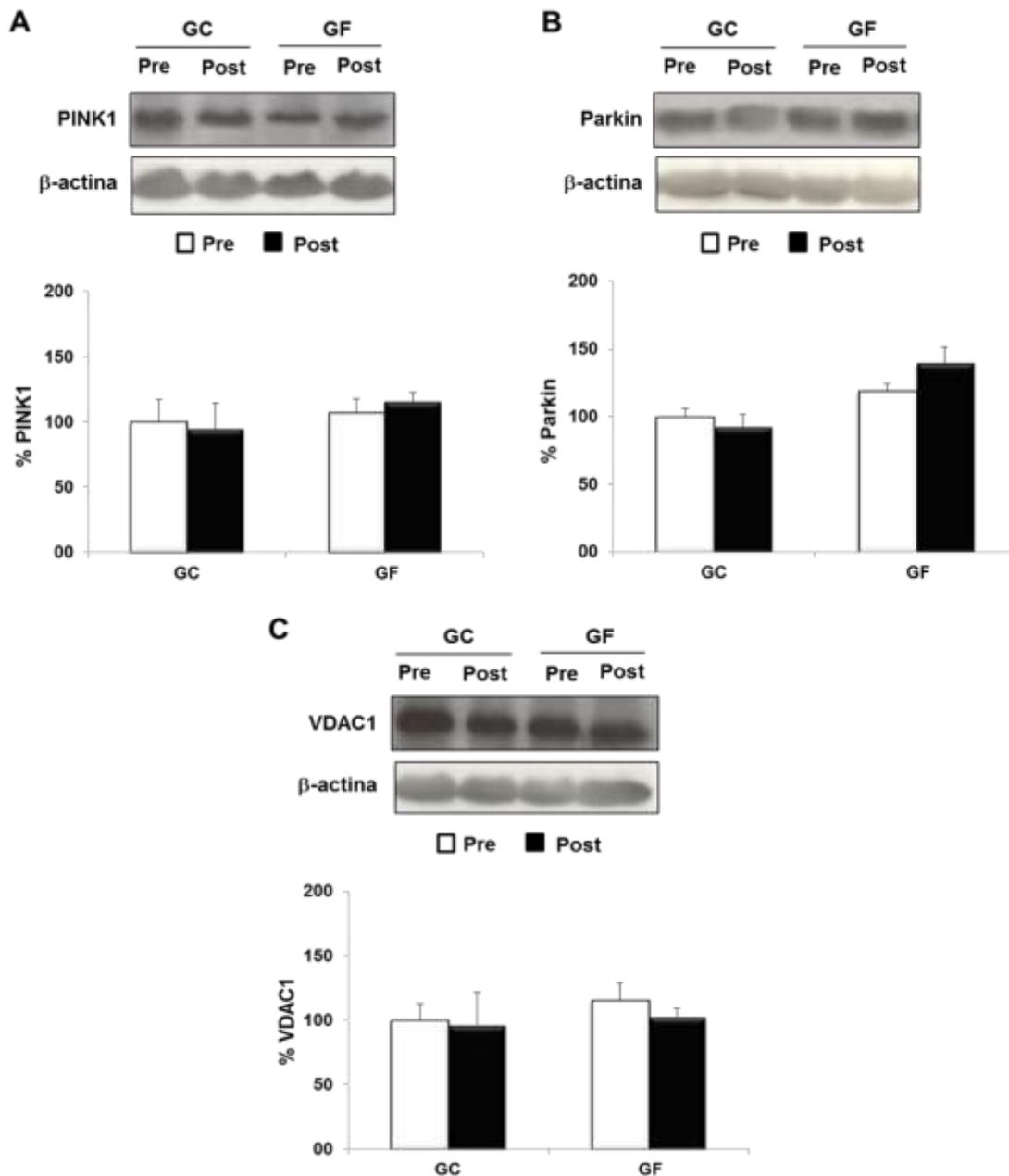
### 5.6.3.3. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin

En la figura 34 están presentados los resultados pre y post intervención de las proteínas relacionadas con la mitofagia de la vía PINK/Parkin, en los dos grupos evaluados. No se encontró cambios para la comparación intragrupo en ninguna de estas proteínas.

Igualmente, no fueron observadas diferencias estadísticas para la comparación intergrupos, como indicado en la tabla 21.

**Tabla 21. Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin en PBMC de personas mayores sometidas a un programa de entrenamiento de fuerza.**

	GC		GF		p-valor	ES
	Media	EEM	Media	EEM		
$\Delta$ _PINK1 (u.a.)	-5,74	7,42	8,75	15,33	0,568	1,95 (0,92; 2,99)
$\Delta$ _Parkin (u.a.)	-7,38	7,06	20,44	16,14	0,110	3,94 (2,52; 5,35)
$\Delta$ _VDAC1 (u.a.)	-3,84	19,90	-12,76	10,04	1,00	-0,45 (-1,35; 0,44)

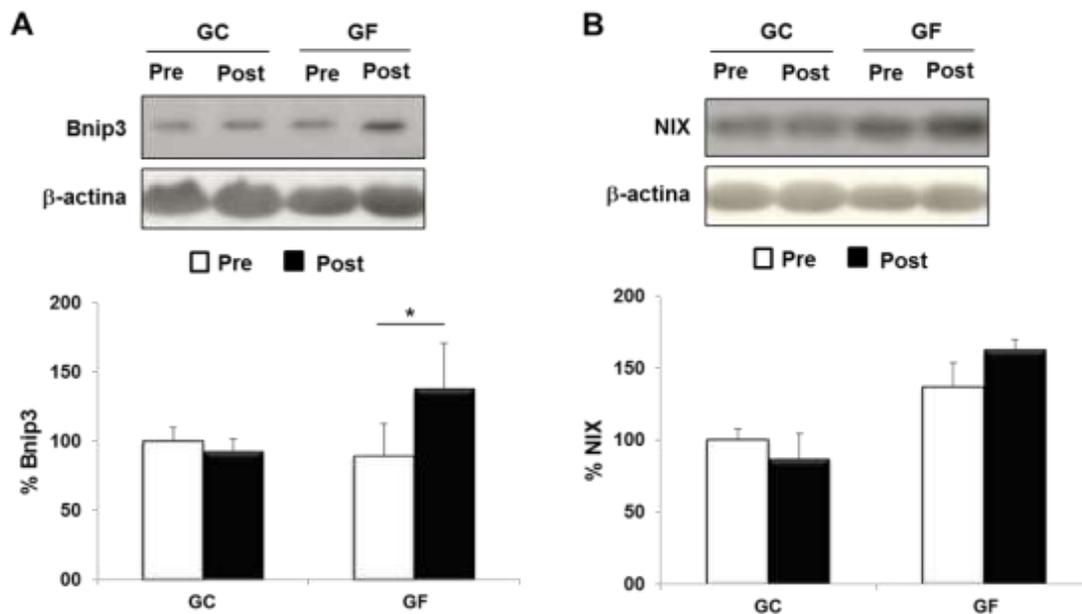


**Figura 34. Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin PINK1 (A), Parkin (B) y VDAC1 (C) en PBMC de personas mayores.**

Los valores se presentan como la media  $\pm$  EEM. Grupo control (GC) y grupo entrenamiento de fuerza (GF).

#### 5.6.3.4. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3

En la figura 35 están presentados los resultados pre y post intervención de las proteínas relacionadas con la mitofagia de la vía NIX/Bnip3, en los dos grupos evaluados. Es posible observar que en el GF hubo un incremento estadísticamente significativo en la expresión de Bnip3 ( $p=0,04$ ). No fueron observados cambios en NIX en el GF y en ninguna proteína en el GC.



**Figura 35. Western blots representativos, cuantificación densitométrica y comparación intragrupos de los valores pre y post entrenamiento de las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3 Bnip3 (A) y NIX (B) en PBMC de personas mayores.**

Los valores se presentan como la media  $\pm$  EEM. Grupo control (GC) y grupo entrenamiento de fuerza (GF). \*:  $p \leq 0,05$  para comparación entre los valores pre y post entrenamiento.

Para la comparación intergrupos, se encontró diferencias estadísticamente significativas en el comportamiento de las proteínas Bnip3 ( $p=0,042$ ) y NIX ( $p=0,048$ ), que presentaron valores aumentados en el GF, cuando comparados con el GC. Estos resultados están demostrados en la tabla 22.

**Tabla 22. Comparación intergrupos de las diferencias absolutas pre y post entrenamiento ( $\Delta$ ) sobre las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3 en PBMC de personas mayores sometidas a un programa de entrenamiento de fuerza.**

	GC		GF		p-valor	ES
	Media	EEM	Media	EEM		
$\Delta$ _Bnip3 (u.a.)	-7,31	9,87	48,58	21,96	0,042	5,66 (3,86; 7,47)
$\Delta$ _NIX (u.a.)	-12,67	14,86	26,09	14,57	0,048	2,61 (1,47; 3,75)

\*:  $p \leq 0,05$  para comparación entre los grupos.

## **6. *Discusión***

---



## 6. DISCUSIÓN

El objetivo del presente estudio fue analizar los efectos de un programa de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas sobre las diferentes manifestaciones de la fuerza muscular, los indicadores de aptitud funcional, la composición corporal y las proteínas de señalización de la mitofagia en personas mayores. Los principales resultados obtenidos son analizados y discutidos en el presente capítulo y se establece su relación con otros datos encontrados en la revisión bibliográfica.

### 6.1. Fuerza máxima

Los procesos degenerativos relacionados con el envejecimiento promueven una pérdida acentuada de la fuerza muscular en general y especialmente en las extremidades inferiores, a partir de los 60 años, con descensos anuales de aproximadamente 3-4% para hombres y 2,5-3% para mujeres (Witard et al., 2016; Brady, Straight y Evans, 2014; McKinnon et al., 2017; Cartee et al., 2016). Sin embargo, el entrenamiento de fuerza es una estrategia que puede frenar las pérdidas de fuerza que ocurren durante el envejecimiento, siendo indicado como instrumento para promoción de la salud de las personas mayores (ACSM, 2009; ACSM, 2011).

Nuestros resultados indican que tras 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas los voluntarios pertenecientes al GF experimentaron un incremento significativo en la FMD y en la FMI tanto en miembros superiores, como en miembros inferiores. Además, en comparación con el GC, el GF aumentó la FMD de MMSS y MMII y la FMI de MMSS.

En la misma línea, Mejías-Peña et al. (2017) estudiaron los efectos de del entrenamiento de fuerza tradicional sobre indicadores funcionales y de autofagia, inflamación y apoptosis en personas mayores. Los autores utilizaron 3 series de 8 a 12 repeticiones a una intensidad de 60 a 80% de 1RM por 8 semanas, dos veces a la semana. Como resultados encontraron un incremento de la FMD y la FMI en los miembros inferiores de las personas mayores

evaluadas. Igualmente, Gennuso et al., (2013), evaluaron personas mayores que fueron sometidas a 8 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional, dos veces a la semana, ejecutando 1 serie de 8 repeticiones con intensidad entre 5 y 6 en la escala OMNI-RES. Como resultado se obtuvo un incremento de la FMD en distintos grupos musculares, incluyendo los MMII. También Frank et al. (2016), utilizando 3 series de 12 repeticiones a 75-80% de la 1 RM de entrenamiento de fuerza tradicional, 3 veces a la semana, durante 8 semanas, verificaron incrementos en la FMD de MMII en personas mayores de 70 años.

Además, estudios que emplearon diferentes tipos de entrenamiento de fuerza también obtuvieron incrementos de la FMD, como los estudios de Ramirez-Campillo et al. (2017), de Ramirez-Campillo et al. (2014) y de Sayers y Gibson (2014) que utilizaron entrenamiento de fuerza de alta velocidad; de Valls et al. (2014), que utilizó entrenamiento de fuerza explosiva; de Kim et al. (2015) que utilizó entrenamiento de fuerza con bandas elástica; o de Mazini-Filho et al. (2017) que utilizó entrenamiento de fuerza en circuito. Específicamente, para la FMI de los MMII de personas mayores, estudios utilizando diferentes tipos de entrenamiento de fuerza observaron incrementos en esta variable, como es el caso de los estudios de Gurjão et al. (2012), de Walker y Häkkinen (2014) y Rodriguez-Miguelez et al. (2014) con entrenamiento de fuerza tradicional; o de Kobayashi et al. (2016) con entrenamiento de fuerza explosiva.

Las mejoras en la fuerza muscular, tanto FMD, como FMI, tras el entrenamiento de fuerza pueden estar relacionadas con adaptaciones morfológicas (Moritani y DeVries, 1979) y/o neurológicas (Schoenfeld, Ogborn y Krieger, 2015) inducidas por el entrenamiento. La principal adaptación morfológica ocasionada por el entrenamiento de fuerza es el aumento en el área de sección transversal de las fibras musculares esqueléticas (Davies et al., 2016; Davies et al., 2017) y que puede conducir a una mayor producción de fuerza mediante el aumento en el número de puentes cruzados dispuestos en paralelo, especialmente en fibras de tipo II; la promoción de la hiperplasia; la producción de cambios en el tipo de fibra y en la arquitectura muscular; el aumento de la densidad de miofilamentos; y la promoción de adaptaciones en las estructuras del tejido conectivo y los tendones musculares (Folland y Willians, 2007).

Por otro lado, la principal adaptación neurológica es el aumento de la activación muscular (Davies et al., 2016; Davies et al., 2017) y que puede llevar a la mayor producción de fuerza por incrementar el número de unidades motoras reclutadas, la velocidad y la frecuencia de disparo en las unidades motoras; mejorar el patrón de activación y la sincronización de reclutamiento de las unidades motoras; aumento de la excitabilidad en las motoneuronas; bloqueo o reducción de impulsos inhibitorios, permitiendo que más unidades motoras se activen simultáneamente; disminución de la inhibición autogénica; y disminución de la coactivación de la musculatura agonista (Gabriel, Kamen y Frost, 2006). Además, es posible que cambios en las características intrínsecas de las neuronas motoras sean las responsables de la mejora de la activación de las unidades motoras, durante las primeras fases del entrenamiento de fuerza (Gabriel, Kamen y Frost, 2006).

En este sentido, mientras las adaptaciones morfológicas parecen responder por el incremento de la fuerza a largo plazo, las adaptaciones neurales serían las responsables del rápido aumento de la fuerza en las primeras semanas de entrenamiento (4 a 8 semanas) (Davies et al., 2016). Así, es probable que las ganancias de fuerza muscular observadas en el presente estudio tras las 8 semanas de intervención sean atribuibles principalmente a adaptaciones neurológicas.

En personas mayores esta ganancia de fuerza muscular promovida por el entrenamiento de fuerza es especialmente importante, sobre todo en los MMII, pues las pérdidas de fuerza en los MMII durante el envejecimiento están fuertemente asociadas con disminuciones en la capacidad física, en la movilidad y posteriormente, discapacidad física con impactos directos en la calidad de vida de las personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013). Así, es posible considerar que un entrenamiento de fuerza con cargas progresivas, de corta duración (8 semanas) es capaz de promover ganancias en la fuerza muscular (FMD y FMI) y puede reflejarse en mejoras de la capacidad física y movilidad, impactando positivamente la autonomía funcional de estas personas mayores.

## 6.2. Potencia muscular

La potencia muscular es la manifestación de la fuerza más afectada por el proceso de envejecimiento, siendo estimada una pérdida un 10% mayor en la potencia muscular, cuando es comparada a la FMD (Brady, Straight y Evans, 2014). Estas pérdidas en la potencia muscular pueden estar relacionadas con la mayor sensibilidad a la degeneración neuromuscular, especialmente las pérdidas de fibras tipo II, que pueden afectar directamente a la velocidad contráctil (McKinnon et al., 2017). Entre las estrategias utilizadas para retrasar la disminución de la potencia muscular, el entrenamiento de fuerza se considera actualmente como la medida preventiva no farmacológica más importante (Edholm, Strandberg y Kadi, 2017).

Nuestros resultados indican que 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas fueron capaces de promover incrementos en la potencia media y la potencia pico de MMII en los voluntarios del GF, en todos los porcentajes del 1RM evaluados. Además, cuando comparados los dos grupos (GC vs. GF) se observó incrementos estadísticamente significativos a favor del GF en la potencia media y potencia pico a 40% y 50% del 1RM. No obstante, los valores de ES indican que también a cargas de 60%, 70% y 80% del 1RM el GF presentó mayor potencia media y mayor potencia pico (60% y 80% del 1RM).

Resultados semejantes son descritos por Valls et al. (2014) en personas mayores de 70 años sometidas a 12 semanas de entrenamiento de fuerza explosiva. Los autores observaron ganancias en la potencia de MMII en el grupo entrenado, comparados al grupo control. Igualmente, Sayers y Gibson (2014) tras 12 semanas de entrenamiento de fuerza de alta velocidad, dos veces a la semana, en personas mayores de 65 años, también observaron ganancias en la potencia pico de MMII. También Ramirez-Campillo et al. (2017) y Ramirez-Campillo et al. (2014), observaron incrementos en la potencia de MMII en personas mayores, tras la ejecución de 12 semanas de entrenamiento de fuerza de alta velocidad, comparadas a sus congéneres controles.

Sin embargo, los mismos autores (Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014) no observaron diferencias en la potencia muscular cuando compararon los mayores que ejecutaron entrenamiento de

fuerza a baja velocidad con sus congéneres controles. También utilizando entrenamiento de fuerza de alta velocidad en personas mayores, Lohne-Seiler, Torstveit y Anderssen (2013) no observaron cambios significativos en la potencia muscular de MMII tras 11 semanas de intervención, dos veces a la semana. De forma semejante, Englund et al., (2017), no verificaron alteraciones en la potencia muscular de MMII en personas mayores, tras la ejecución de 6 semanas de entrenamiento de fuerza a baja velocidad (75°/s), en una máquina isocinética.

La potencia muscular es producto de la fuerza y de la velocidad de contracción (Reid y Fielding, 2012). Así, incrementos en esta variable pueden ser explicados por aumentos en la fuerza muscular o aumentos en la velocidad de contracción. El incremento de la potencia muscular mediado por aumentos de la fuerza estarían relacionados con cambios cuantitativos de masa muscular y alteraciones en las propiedades de las fibras musculares, en particular, en las fibras musculares de tipo II, que poseen la capacidad de generar cuatro veces más potencia que las fibras de tipo I, además de los factores ya explicados en el apartado específico sobre la FMD y FMI. El incremento de la potencia mediado por el aumento de la velocidad de contracción estaría relacionado con la propiedad contráctil muscular, que puede incrementar independientemente de ocurrir alteraciones en el tamaño y composición del músculo; y con la activación neuromuscular, que conduce a una disminución del tiempo necesario para alcanzar la fuerza máxima y a un incremento de la generación de energía muscular (Reid y Fielding, 2012).

Se sabe que la velocidad de contracción parece estar más afectada por el proceso de envejecimiento, siendo la principal responsable por la pérdida de potencia que acompaña al aumento de la edad (Sayers, 2008). Además, la velocidad de contracción demuestra mayor asociación con el rendimiento funcional en personas mayores que la fuerza máxima (Sayers, 2008). En este sentido, los incrementos en la potencia muscular observados tras la realización de un programa de entrenamiento de fuerza también pueden estar asociados a la mejora en la selectividad de reclutamiento de unidades motoras o aumento de la frecuencia de disparo de potenciales de acción y sincronización de unidades motoras (Soriano et al., 2015; Soriano et al., 2017).

El incremento de la potencia muscular en los MMII de personas mayores es un importante resultado, pues esta variable parece ser el mejor predictor de la capacidad funcional en personas mayores, estando fuertemente asociada con la velocidad de la marcha, el equilibrio y la funcionalidad en general, además de ser la manifestación de la fuerza más importante para la realización de las actividades de la vida diaria, como subir escaleras, levantarse de una silla o desplazarse por la casa (Brady, Straight y Evans, 2014).

Adicionalmente, vale resaltar que los estudios que encontraron cambios en la potencia muscular de MMII en personas mayores utilizaron métodos de entrenamiento de fuerza basados en la velocidad de ejecución y que tuvieron duración de 12 semanas. Nosotros optamos por una intervención con entrenamiento de fuerza con cargas progresivas, conforme recomendado por el *American College of Sports Medicine* (ACSM, 2009; ACSM, 2011) y una duración de 8 semanas, sugiriendo que un entrenamiento considerado clásico y un corto período de intervención, pueden promover beneficios en la potencia muscular de los MMII en personas mayores.

### **6.3. Capacidad funcional**

Tradicionalmente, la capacidad funcional es evaluada mediante la realización de tareas relacionadas con las actividades de la vida diaria (Gluchowski et al., 2015). En las personas mayores, debido a las alteraciones producidas por el proceso de envejecimiento, se observa una disminución de la capacidad funcional, que en casos más graves puede evolucionar a la discapacidad e incluso, la muerte (Witard et al., 2016). Sin embargo, la práctica de ejercicios físicos, especialmente, del entrenamiento de fuerza está recomendada como forma de mejorar la capacidad funcional en personas mayores (Brady, Straight y Evans, 2014).

En este sentido, tras 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas, fue posible observar incrementos en la capacidad funcional de las

personas mayores del GF, medida por medio de cuatro pruebas (8FUG; 30CST; ACT; 2MST). En el GC no fueron observadas diferencias entre los valores pre y post.

La prueba 8FUG, es considerada una prueba que mide la movilidad de las personas mayores, que está relacionada con acciones utilizadas en la vida cotidiana y asociada directamente con la capacidad funcional y el riesgo de caídas en las personas mayores (Mielenz et al., 2017).

El desempeño en esta prueba fue incrementado en las personas del GF tras las 8 semanas de entrenamiento. Igualmente, Pinto et al., (2014) y Fragala et al. (2013) utilizando 6 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional en personas mayores, también observaron incrementos en el desempeño de la prueba 8FUG. En la misma línea, dos estudios realizados por un mismo grupo de investigación (Ramirez-Campillo et al., 2014; Ramirez-Campillo et al., 2015) utilizando 12 semanas de entrenamiento de fuerza de alta velocidad también observaron mejoras significativas en los resultados de esta prueba.

Una posible explicación para la mejora observada en el desempeño de la prueba 8FUG en las personas mayores tras la realización de las 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas puede estar en la asociación existente entre la fuerza muscular de MMII y la capacidad funcional (Jung y Yamasaki, 2016), ya que, tanto la fuerza muscular (extensores y flexores de la rodilla), como el rango de movimiento de los MMII son predictores de discapacidad funcional en adultos mayores. Además, la fuerza muscular de flexores y extensores de la rodilla pueden explicar un 47% del desempeño en la prueba 8FUG (Jung y Yamasaki, 2016). En este sentido, un programa de entrenamiento de fuerza puede tener influencia en el desempeño de la prueba 8FUG y la capacidad funcional por promover adaptaciones neurales y estructurales que ayuden en el incremento en los niveles de fuerza de los MMII.

La prueba 30CST, está relacionada con numerosas tareas de la vida diaria como subir escaleras, levantarse de una silla, de la bañera o del coche, siendo una prueba que puede ser un indicador de la fuerza y la potencia

muscular de los MMII en personas mayores (Barbat-Artigas et al., 2012; Smith et al., 2010; Bennell, Dobson y Hinman, 2011).

En el presente estudio, se verificó que 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas fueron capaces de mejorar el resultado de personas mayores que realizaron esta prueba. De manera semejante, diferentes estudios utilizando 6 semanas (Correa et al., 2012; Fragala et al., 2014; Pinto et al., 2014) o 12 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional (Lee y Park, 2013; Smoralek et al., 2014) también verificaron incrementos en el desempeño de la prueba 30CST. Adicionalmente, 12 semanas de entrenamiento de fuerza de alta velocidad (Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014) también produjeron resultados parecidos en esta prueba.

Los posibles mecanismos implicados en el incremento del desempeño en la prueba 30CST tras las 8 semanas de entrenamiento quizás sean aquellos ya explicados en las ganancias de fuerza y potencia muscular, ya que, los mecanismos concretos por los cuales los incrementos de la fuerza/potencia muscular se reflejarían en una mejora de la capacidad funcional todavía no están bien aclarados (Beijersbergen et al., 2013).

La prueba ACT está relacionada con la fuerza de miembros superiores. Está caracterizada por ser una prueba de fácil ejecución y utilización práctica para estudios poblacionales, estando normalizada en diferentes países como Portugal y España (Pedrero-Chamizo, et al., 2012; Gouveia, et al., 2013).

El desempeño en esta prueba también fue incrementado en las personas del GF tras las 8 semanas de entrenamiento. Igualmente, Mazini-Filho et al. (2017) también encontraron mejoras en la prueba ACT, en mujeres mayores sometidas a 12 semanas de entrenamiento de fuerza en circuito. Los autores indican que la fuerza de miembros superiores evaluada por medio de la prueba ACT incrementó tras solamente 6 semanas de entrenamiento, mientras no se observó diferencias en el grupo control. De la misma forma, Mingos et al. (2011) observó mejoras en el desempeño de la prueba ACT tras 24 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas en adultos con riesgo de desarrollo de diabetes. Adicionalmente, Lemey et al. (2012) también verificó

incrementos en la fuerza de miembros superiores medidas por medio de la ACT en pacientes con artritis reumatoide, tras 24 semanas de entrenamiento de fuerza de alta intensidad. Otro estudio que demostró incrementos en la fuerza de miembros superiores medida por la prueba ACT tras 9 semanas de entrenamiento multi-componente (aeróbico + fuerza + flexibilidad) en personas mayores entre 63 y 84 años, fue el realizado por Toraman (2005).

Este incremento en la fuerza de los miembros superiores de las personas mayores puede ser explicado por los mismos mecanismos que responden por el aumento de fuerza en lo MMII, y son importantes porque pueden auxiliar a mejorar la capacidad de ejecutar tareas de la vida diaria, como cargar una bolsa con la compra del supermercado o transportar un objeto de un sitio hacia otro, u otras actividades que impliquen levantar o llevar cosas.

La prueba 2MST, que está relacionada con la resistencia aeróbica y la fuerza (resistencia) de MMII (Rikli y Jones, 1999; Rikli y Jones, 2013). Se sabe en personas mayores, la independencia funcional está relacionada con el mantenimiento de suficiente capacidad aeróbica y fuerza muscular para realizar las actividades diarias (Fleg et al., 2005). Así, promover estrategias que mantengan o incluso mejoren estas variables físicas, es una forma de promover el envejecimiento saludable.

En la presente investigación, se observó que 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas son capaces de mejorar el desempeño de personas mayores en la prueba 2MST. De manera semejante, Moreira et al. (2018), estudiaron el impacto de un modelo de clases de hidrogimnasia sobre la capacidad funcional y flexibilidad de mujeres mayores. Los autores encontraron que 12 semanas de clases de hidrogimnasia fueron capaces de mejorar el desempeño de las participantes del grupo experimental en la prueba 2MST. Adicionalmente, 14 semanas de intervención con Tai Chi fueron capaces de incrementar el desempeño de personas mayores de 60 años en la prueba 2MST (Taboonpong et al., 2008) y 15 semanas de entrenamiento multi-componente (aeróbico + fuerza) fueron capaces de mejorar el desempeño de mujeres sanas con edad entre 49 y 65 años en esta prueba (Bartolomeu et al., 2017).

La mejora observada tras las 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas en esta prueba, puede indicar mejora en la resistencia muscular de los MMII de las personas mayores. La resistencia muscular es importante para las personas mayores, pues puede reflejar la reserva fisiológica de una persona para desarrollar sus actividades cotidianas sin fatigarse de manera precoz. Además, el incremento de la resistencia muscular también puede auxiliar a la persona mayor a mantener su independencia funcional y la ejecución de forma autónoma de las actividades de la vida diaria (Boneth Collantes et al., 2012).

Por tanto, es posible considerar que tras las 8 semanas de intervención fue posible aumentar la capacidad funcional de las personas mayores de manera general, con mejoras en el desempeño de pruebas que evalúan la fuerza muscular (fuerza dinámica, resistencia y potencia) de MMII, la fuerza de miembros superiores y la movilidad. Estas mejoras verificadas en la capacidad funcional son importantes para las personas mayores porque puede contribuir en la disminución del riesgo de caídas, con consecuente disminución del riesgo de fracturas, reducción del riesgo de desarrollo de debilidad muscular y de discapacidad física (McKinnon et al., 2017; Brady, Straight y Evans, 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013). Así, es posible considerar que una intervención de corta duración, con entrenamiento de fuerza convencional, es eficiente para promover ganancias en la capacidad funcional en personas mayores.

#### **6.4. Composición corporal y salud ósea**

La prevalencia de osteoporosis y las fracturas a ella asociada aumentan con la edad (Eastell et al., 2016). Considerando que la población mundial está envejeciendo, es posible pensar que el número de fracturas debidas a la osteoporosis aumentará en los próximos años. Este posible aumento del número de fracturas puede traer consecuencias físicas indeseables a las personas afectadas, ya que están relacionadas con deformidad en la región

fracturada, miedo a la caída, dolor crónico, disminución de la capacidad funcional y aumento de las chances de desarrollar alguna morbilidad y mortalidad prematura (Eastell et al., 2016). Con todo, la práctica de ejercicios físicos puede prevenir la pérdida de masa ósea, e incluso aumentarla, estando incluido en el tratamiento para prevención de la osteoporosis (Curtis et al., 2015; Liu y Webster, 2016; Nilsson et al., 2017; Liao et al., 2016; Uth et al., 2016; Goolsby y Boniquit, 2017).

Las 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas no fueron capaces de promover cambios en ninguna de las variables relacionadas con la salud ósea (CMO, DMO, Tscore y Zscore). Diferentemente de los resultados encontrados en la presente investigación, Huovinen et al. (2016) observaron incremento de la DMO en mujeres mayores tras 16 semanas de entrenamiento de fuerza tres veces a la semana; Marques et al. (2013) observaron incrementos en la DMO del fémur y de la cadera en personas mayores tras 32 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional más ejercicio de impacto con pesas, tres veces a la semana; y Watson et al. (2015) observaron incrementos en la DMO del fémur y de la columna tras 8 meses de entrenamiento de fuerza de alta intensidad dos veces a la semana en mujeres mayores de 60 años.

Un reciente estudio de meta-análisis (Sañudo et al., 2017) indica que los ejercicios que producen elevada carga mecánica, como el entrenamiento de fuerza, son efectivos para preservar la DMO en mujeres peri-menopáusicas y posmenopáusicas. Adicionalmente, otro estudio de meta-análisis (Zhao, Zhang y Zhang, 2017) indica que intervenciones con combinaciones de ejercicios, que incluyen el entrenamiento de fuerza, con duración entre 8 y 12 meses fueron capaces de producir incrementos en la DMO del fémur.

Este aumento de la DMO en respuesta al entrenamiento puede ser explicado por la constante remodelación ósea, provocada por estímulos hormonales y/o mecánicos (Eastell et al., 2016). Además, el aumento de la carga física y/o la tensión mecánica provocada por la contracción muscular generada por los ejercicios, como el entrenamiento de fuerza, estimula la

---

acción de los osteoblastos y promueve la mejora de la resistencia, de la masa y de la densidad ósea (Curtis et al., 2015).

Así, la discrepancia entre nuestros resultados y los observados por otros autores (Huovinen et al., 2016; Marques et al., 2013; Watson et al., 2015) quizás se deba al tiempo de intervención, pues los estudios que encontraron resultados del entrenamiento sobre la salud ósea utilizaron intervenciones más largas (4 a 12 meses), mientras nosotros utilizamos 8 semanas, lo que indica que si el objetivo de un programa de entrenamiento es promover la salud ósea de las personas mayores, este debe tener una duración más larga, por ejemplo, igual o superior a 4 meses.

El proceso de envejecimiento está asociado a cambios que resultan en disminución de la MM, incremento de la MG del tronco, aumento de la infiltración de grasa en los tejidos y órganos e incremento de la liberación de citoquinas pro-inflamatorias (Jura y Kozak, 2016; Kalish, 2016; Zamboni et al., 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013; Teodoro et al., 2010). Todos estos cambios pueden repercutir negativamente en la sensibilidad a la insulina y empeoramiento de las condiciones de salud de la persona mayor (Jura y Kozak, 2016; Zamboni et al., 2014). En esta línea, el Colegio Americano de Medicina del Deporte (ACSM, 2011) recomienda la práctica regular de ejercicios físicos, entre los cuales el entrenamiento de fuerza, para mantenimiento y pérdida de peso, como forma de revertir estos efectos negativos asociados al envejecimiento.

La MG corporal total demostró reducción en los participantes del GF, tras la realización del programa de entrenamiento de fuerza. Además, también fue observada reducción de la MG de los brazos y de la MG ginecoide. Zhao et al. (2017), utilizando 12 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional también observó disminución en la MG de personas mayores de China. Igualmente, Delshad et al. (2013) observaron disminución de la MG en mujeres mayores posmenopáusicas, tras la realización de 12 semanas de entrenamiento de fuerza con bandas elásticas. Sin embargo, otros estudios que utilizaron 6 semanas (Silva Correa et al., 2013; Scalon et al., 2014; Emerson et al., 2015) o 12 semanas (Gerage et al., 2013) de entrenamiento de fuerza

tradicional no encontraron cambios en la MG de personas mayores de 65 años. Tampoco, 12 semanas de entrenamiento de fuerza con bandas elásticas fueron capaces de promover la disminución de la MG de personas mayores de Corea del Sur (Kim et al., 2015).

La discrepancia entre los resultados de los diferentes estudios puede ser debida a los diferentes métodos empleados tanto para el entrenamiento, como para la evaluación de la composición corporal. Sin embargo, la reducción de la MG encontrada en nuestro estudio y observada por otros (Zhao et al., 2017; Delshad et al., 2013), quizás puede ser explicada por el incremento del gasto energético generado durante la práctica del entrenamiento de fuerza, además del aumento de la capacidad de reclutamiento de fibras musculares, mejora de la capacidad de generación de fuerza y movilización de grasas, que es inducida por el entrenamiento (Oliveira et al., 2013) y puede incrementar el gasto energético diario y auxiliar en la pérdida de MG.

La MM no sufrió cambios tras las 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas. Este resultado está en acuerdo con los estudios de Gerage et al. (2013), Scalon et al. (2014), Fragala et al. (2014), Zech et al. (2012), Emerson et al. (2015), Walker y Häkkinen (2014) y Silva Correa et al. (2013), que tampoco verificaron cambios en la MM tras la realización de distintos períodos (6 a 12 semanas) de entrenamiento de fuerza tradicional. Tampoco se obtuvo cambios en la MM tras 8 (Martins et al., 2015) o 12 semanas (Kim et al., 2015) de entrenamiento de fuerza con bandas elásticas.

Por otro lado, Correa et al. (2012), tras 6 semanas y Frank et al. (2016), tras 8 semanas de entrenamiento de fuerza tradicional verificaron incrementos en la MM de MMII en personas mayores. Igualmente, Delshad et al. (2013), observó aumentos en esta variable tras 12 semanas de entrenamiento de fuerza con bandas elásticas y Kobayashi et al. (2016), con tan sólo 4 semanas de entrenamiento de fuerza explosiva.

Una vez más, la diferencia entre los resultados encontrados en los estudios podría deberse a los diferentes métodos empleados en el entrenamiento y en la evaluación de la MM. Con todo, la ausencia de alteraciones en la MM observada en el presente estudio puede estar

relacionada con el corto periodo de entrenamiento utilizado, ya que, en un estudio de meta-análisis realizado por Peterson, Sen y Gordon (2011), fue encontrado que el tiempo medio para que se produzca una ganancia de 1,1 kg de MM en personas mayores de 50 años es de 20,5 semanas de entrenamiento. Más recientemente, Borde, Hortobágyi y Granacher (2015), en otro estudio de meta-análisis indicaron que, para producir cambios en la morfología muscular de personas mayores, el entrenamiento debería tener una duración entre 50 y 53 semanas, 3 veces a la semana, con 2-3 series de 7-9 repeticiones por ejercicio, a una intensidad de 51-69% del 1RM. Así, es posible considerar que, programas que objetiven incrementos en la MM, mediante el empleo de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas o tradicional, deben poseer duración superior a la utilizada en el presente estudio, preferencialmente, acercándose a la duración indicada por Peterson, Sen y Gordon (2011) o por Borde, Hortobágyi y Granacher (2015).

Por tanto, tras las 8 semanas de intervención fue posible verificar cambios en la composición corporal, concretamente en la reducción de la MG, pero sin cambios observables en la MM y en la salud ósea, lo que nos hace pensar que la utilización de programas de entrenamiento con duración más larga que el aquí empleado podrían producir beneficios para la salud ósea, MM y quizás promover mayores disminuciones en la MG. La promoción de mejoras en la composición corporal y en la salud ósea son importantes para las personas mayores porque estarían relacionadas a un envejecimiento saludable, contribuyendo de manera directa e/o indirecta en la reducción del riesgo de desarrollo del síndrome de fragilidad, del riesgo de caídas, de disfunciones metabólicas, además de mejorar la capacidad física, el equilibrio, la movilidad, la fuerza/potencia muscular y la capacidad funcional (ACSM, 2011; ACSM, 2009; Brady, Straight y Evans, 2014).

## 6.5. Proteínas de señalización de la mitofagia

### 6.5.1. Efecto del envejecimiento en las proteínas de señalización de la mitofagia

El flujo autofágico parece estar disminuido en personas mayores (Mejías-Peñas et al., 2016). De hecho, nuestros resultados indican que algunas proteínas relacionadas con la mitofagia/autofagia presentan diferencias significativas en personas mayores (p62, VDAC1, NIX, LC3 I y LC3 II), cuando comparadas a sujetos jóvenes. Además, otras proteínas (OPA1, PINK1, Parkin y Bnip3) presentan tendencia a la disminución en personas mayores.

OPA1 es una proteína que está involucrada en el proceso de la dinámica mitocondrial, participando activamente de la fusión mitocondrial y la estabilización de las crestas de la membrana mitocondrial (Tezze et al., 2017). Una disminución de la expresión de OPA1 está relacionada con un peor funcionamiento mitocondrial y mayor producción de ROS, con consecuencias negativas en tejidos como el cerebro, el corazón y el hígado, así como en la inducción de la atrofia muscular (Varanita et al., 2015).

En nuestros resultados fue observada una tendencia a la disminución de la cantidad de OPA1 en las PBMC de varones mayores, cuando comparados a varones jóvenes. De forma discrepante, algunos estudios indican un aumento de la expresión de OPA1 (Capitanio et al., 2016a; Leduc-Gaudet et al., 2015; Stauch, Purnell y Fox, 2014; O'Leary et al., 2013) en el cerebro y en el músculo de roedores de edad avanzada. Por otro lado, algunos estudios (Niemann et al., 2017; Distefano et al., 2017; Joseph et al., 2013) señalan una ausencia de cambios o incluso disminución (Tezze et al., 2017; Joseph et al., 2012) en esta proteína.

Al contrario de lo que se puede pensar, un incremento en la expresión de OPA1 no estimula la biogénesis mitocondrial o un aumento de la autofagia (Varanita et al., 2015). Esta expresión aumentada de OPA1 puede auxiliar en el mantenimiento de la función mitocondrial, induciendo un aumento en la capacidad respiratoria, que está relacionado con la rigidez de las crestas

(Cogliati et al., 2013), siendo una estrategia para intentar contrarrestar la atrofia muscular observada durante el envejecimiento. Por otro lado, una disminución de la expresión de esta proteína puede promover una desestabilización de las crestas mitocondriales, promoviendo una disfunción mitocondrial, con el consecuente aumento de la producción excesiva de ROS y direccionamiento de estos orgánulos hacia la eliminación por mitofagia o apoptosis (Trezze et al., 2017).

PINK1 y Parkin son otras dos proteínas que presentaron tendencia a la disminución en personas mayores. De forma semejante, otros estudios también indican disminución (Niemann et al., 2017) o ausencia de alteraciones (Capitanio et al., 2016a; Ogborn et al., 2015) en los niveles de PINK1 en estudios con modelos animales o humanos. Por otro lado, Parkin parece estar aumentada en el músculo de ratas viejas (O'Lary et al., 2013).

En condiciones fisiológicas, PINK1 migraría de la OMM para la IMM e sería degradada por proteasas mitocondriales (Bingol y Sheng, 2016). Sin embargo, en una mitocondria dañada/disfuncional, PINK1 se acumula en la OMM y promueve la activación de la vía de mitofagia PINK1/Parkin mediante la fosforilación de Parkin y su reclutamiento hasta la OMM (McWilliams y Muqit, 2017). Posteriormente, toda la cascada de reacciones de esta vía va a conducir a la mitocondria dañada/disfuncional a la degradación por mitofagia. En este sentido, un incremento de estas dos proteínas puede indicar una mayor activación de la mitofagia por la vía PINK1/Parkin.

Sin embargo, en las personas mayores evaluadas se observó una tendencia a la disminución de los niveles de estas dos proteínas, lo que puede indicar un fallo en la activación de la mitofagia, con la consecuente acumulación de mitocondrias dañadas/disfuncionales que están asociadas al desarrollo de algunas enfermedades (Mouton-Liger et al., 2017).

VDAC1 es la proteína responsable por controlar la permeabilidad y la conductancia de la OMM, además de modular la apertura y cierre de los MPTP (Ding y Yin, 2012). Esta proteína parece estar disminuida en el cerebro (Krestinina et al., 2015) y en el músculo de ratas ancianas (Capitanio et al., 2016a). No obstante, otros estudios no encontraron diferencias en la expresión

de esta proteína en el músculo de personas mayores (Ogborn et al., 2015; Gram et al., 2014), cuando son comparados con personas jóvenes.

Nuestros resultados indican una reducción significativa en la expresión de VDAC1 en PBMC de personas mayores. Esta reducción del contenido de VDAC1 con el envejecimiento posiblemente indica que la vejez puede inducir cambios en la susceptibilidad mitocondrial a la sobrecarga de  $\text{Ca}^{2+}$  y en la apertura de los MPTP (Krestinina et al., 2015). La menor disponibilidad de VDAC1 en la OMM también puede indicar un fallo en la vía de mitofagia PINK1/Parkin, pues esta debería ser ubiquitinada por Parkin, para permitir su unión con p62 y la ligación entre el lisosoma y la mitocondria dañada/disfuncional (Ogborn et al., 2015). Adicionalmente, VDAC1 también podría estar implicada en apoptosis por cierre del MPTP y/o por regulación de la homeostasis de  $\text{Ca}^{++}$ , induciendo a la eliminación de las mitocondrias dañadas/disfuncionales por apoptosis, en detrimento de la mitofagia (Gram et al., 2014).

Otra vía que activa la mitofagia es la vía NIX/Bnip3. Estas dos proteínas regulan dos funciones celulares básicas, la muerte celular y la autofagia/mitofagia (Ney, 2015). En nuestros voluntarios mayores NIX presentó una reducción significativa y Bnip3 una tendencia a disminución, comparados a los jóvenes. Estos datos están coincidentes con algunos autores que afirman que la mitofagia está disminuida en personas mayores (Palikaras, Lionaki y Tavernarakis, 2015; Sgarbi et al., 2014). Además, otros autores sugieren que Bnip3 no sufre alteración (Distefano et al., 2017; Ogborn et al., 2015) o incluso puede disminuir (Capitanio et al., 2016b) en diferentes tejidos de humanos y animales de edad avanzada.

Esta disminución de NIX y Bnip3 puede indicar una reducción del flujo mitofágico y acúmulo de mitocondrias dañadas/disfuncionales, debido a que, animales deficientes en NIX presentaban eritrocitos con exceso de mitocondrias anormales (Schweers et al., 2007), además los reticulocitos de ratones deficientes en NIX exhibían una debilidad en el sistema de aclaramiento de las mitocondrias dañadas/defectuosas (Sandoval et al., 2008).

Las proteínas LC3 I y II participan de la mitofagia mediando la formación del autofagosoma y su ligación con la mitocondria que necesita ser eliminada (Schwalm, Deldicque y Francaux, 2017; Gomes y Scorrano, 2013; Hamacher-Brady y Brady, 2016) en las dos principales vías de la mitofagia. Algunos estudios muestran que la relación LC3II/I en las PBMC (Mejías-Peña et al., 2016) y en el músculo esquelético (Tanner et al., 2015) de personas mayores es menor, en comparación con un grupo de jóvenes. Estos estudios están en acuerdo con nuestros resultados que exhiben una menor cantidad de LC3II y I en PBMC de personas mayores, comparadas a jóvenes. Esta disminución de LC3 II y I relacionada con el envejecimiento puede indicar un fallo en la cascada de reacciones que lleva a la mitofagia, ya que, una menor disponibilidad de estas proteínas podría significar reducción de las ligaciones de los autofagosomas con las mitocondrias dañadas/disfuncionales, con el consecuente acúmulo de estos orgánulos.

Por tanto, aunque aparentemente no exista un consenso en la literatura científica, nuestros resultados indican que el envejecimiento parece estar asociado a la disminución de la capacidad mitofágica del organismo.

#### 6.5.2. Efecto del sexo en las proteínas de señalización de la mitofagia

Las diferencias entre los sexos pueden ser observadas en rasgos anatómicos, fisiológicos y de comportamiento, siendo resultado de la interacción entre factores genéticos, epigenéticos, hormonales y ambientales (Ventura-Clapier et al., 2017). En general, las mujeres presentan mayor expectativa de vida y mejor cuadro de salud (Regitz-Zagrosek, 2012).

Incluso en la función mitocondrial se observa diferencias entre hombres y mujeres, en muestra de tejido muscular, en que las mujeres presentan más contenido lipídico intracelular (Tarnopolski et al., 2007) y mayor protección contra el estrés oxidativo (Marzani, Pansarasa y Marzatico, 2004) que los hombres. Demarest et al. (2016), en un estudio con ratones Sprague-Dawley machos y hembras jóvenes, verificó que los animales machos presentaban

mayor contenido de LC3 II en su tejido cerebral que las hembras. Además, el ratio LC3II/I también era más elevado en el cerebro de los machos. Sin embargo, tras inducir daño cerebral en estos animales, las hembras presentaban niveles aumentados de mitofagia, resultando en mayor protección contra el daño cerebral. Con estos resultados, los autores concluyeron que el cerebro de ratones hembras poseía una capacidad innata de regular la mitofagia, que era capaz de proteger el hemisferio contralateral de la muerte celular neuronal.

Sin embargo, nuestros resultados indican que en PBMC de personas mayores no fueron observadas diferencias en las proteínas de mitofagia entre hombres y mujeres. Una posible explicación para esta discrepancia quizás esté en el hecho de que se trata de mujeres posmenopáusicas donde las diferencias relacionadas al sexo estarían atenuadas, debido a la disminución de la influencia de las hormonas sexuales femeninas sobre diversas funciones fisiológicas (Austad y Bartke, 2016).

Evidencias sugieren que el estrógeno, el estradiol y la progesterona actúan como activadores de las células del sistema inmunológico (Pennell, Galligan y Fish, 2012). Sin embargo, es sabido que con el avance de la edad las concentraciones de hormonas sexuales disminuyen rápidamente en las mujeres y más gradualmente para los hombres, promoviendo una disminución funcional progresiva en el sistema inmunológico de ambos sexos (Klein y Flanagan, 2016). Además, la menopausia también está asociada a una disminución de algunos subgrupos de linfocitos (Klein y Flanagan, 2016). Estas alteraciones propias del envejecimiento podrían ser las responsables de la falta de diferencias en las proteínas de mitofagia entre hombres y mujeres, observada en este estudio.

### 6.5.3. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de señalización de la mitofagia

#### 6.5.3.1. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de macroautofagia

Teóricamente, la práctica regular de ejercicio físico puede tener efectos en las principales vías de señalización que intervienen en el control de calidad y cantidad de las mitocondrias durante el proceso de envejecimiento (Tam y Siu, 2014).

Un aumento de la expresión de LC3I y LC3II, así como la elevación del ratio LC3II/I en respuesta a un programa de ejercicios físico, indica una mejora en la formación y funcionalidad de los autofagosomas (Mejías-Peña et al., 2016). Adicionalmente, p62 es una proteína que interfiere en la unión de los substratos ubiquitinados a la maquinaria autofágica y es degradada por el lisosoma (Sanchez et al., 2014). Cuando se inhibe la autofagia, p62 se acumula y disminuye cuando se induce la autofagia, así esta proteína puede ser usada como marcador para monitorizar el flujo automático (Klionsky et al., 2016).

En este sentido, era posible esperar que, tras el programa de entrenamiento de fuerza llevado a cabo en el presente estudio, los niveles de LC3I, LC3II y LC3II/I incrementasen y el de p62 disminuyese. Sin embargo, nuestros resultados indicaron que no hubo diferencias significativas para la comparación entre los valores pre entrenamiento y post entrenamiento en estas proteínas. En la comparación intergrupo fue observada una tendencia de disminución de p62 en el GF, con un tamaño del efecto considerado grande.

De manera semejante, otros autores tampoco encontraron diferencias significativas inducidas por la práctica regular de actividad física en humanos (Drummond et al., 2014), por un programa específico de carrera en tapiz en ratones (Gusdon et al., 2017) o de entrenamiento de fuerza en humanos (Mejías-Peña et al., 2017) en LC3I, LC3II o el ratio LC3II/I. Por otro lado, otros estudios muestran que el ejercicio físico puede inducir cambios en estas proteínas, como un incremento de LC3II (Wohlgemuth et al., 2011; Ogborn et al., 2015), aumento del ratio LC3II/I (Tanner et al., 2015; Mejías-Peña et al., 2016) y disminución de p62 (Mejías-Peña et al., 2016).

Una posible explicación para la discordancia de nuestros resultados con los presentados por algunos estudios (Wohlgemuth et al., 2011; Ogborn et al., 2015; Tanner et al., 2015; Mejias-Peña et al., 2016) puede deberse a dos factores principales: el nivel de acondicionamiento físico de los participantes de este estudio y el tiempo de duración de la intervención.

El nivel de acondicionamiento físico de los participantes va a influenciar en los resultados ya que, cuanto más entrenado está el sujeto, más difícil será producir cambios en respuesta a un programa de ejercicios (Selye, 1946). Los voluntarios que participaron en este estudio eran físicamente activos e ya participaban en programas de entrenamiento físico (distintos al entrenamiento de fuerza), quizás por eso no presentaron los resultados observados en otros estudios, los cuales fueron desarrollados con personas o animales, que en el inicio de la investigación no estaban entrenados.

El tiempo de duración de la intervención, que fue de 8 semanas, también puede haber sido un factor responsable para la diferencia de resultados entre los estudios, ya que, personas mayores pueden tardar más tiempo en conseguir las adaptaciones al ejercicio que personas jóvenes (ACSM, 2009). Así, es posible que para la promoción de cambios significativos en las proteínas de macroautofagia en personas mayores físicamente activas, el tiempo de intervención debiese haber sido más largo.

#### 6.5.3.2. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de dinámica mitocondrial

Una de las posibles consecuencias del envejecimiento en las mitocondrias es el aumento de la producción de ROS. No obstante, la contracción del músculo esquelético durante el ejercicio físico puede activar una respuesta mitocondrial que mejora la calidad de las mitocondrias, sea por inducir el aumento de la biogénesis mitocondrial, o sea por inducir la expresión y la acción de las proteínas implicadas en la dinámica mitocondrial.

En este sentido, una de las primeras respuestas esperadas de la dinámica mitocondrial al ejercicio es un incremento de la biogénesis mitocondrial, inducida por la expresión de PGC1 $\alpha$ . De hecho, tras las 8 semanas de entrenamiento observamos en el presente trabajo, un incremento significativo de los niveles de PGC1 $\alpha$  en las PBMC de las personas mayores del GF. Además, la comparación intergrupo no presentó diferencia significativa, pero demostró un gran tamaño del efecto.

De forma semejante, la práctica regular de entrenamiento aeróbico indujo un aumento de la expresión de PGC1 $\alpha$  en tejido muscular de humanos y roedores (Konopka et al., 2014; Broskey et al., 2014; Kang et al., 2013; Koltai et al., 2012; Palacios et al., 2009). También, una única sesión de ejercicio fue capaz de producir aumentos en la expresión de mRNA de esta proteína en humanos y en ratas (Ogborn et al., 2015; Ljubicic et al., 2009; Cogley et al., 2012; Iversen et al., 2011).

Este aumento de los niveles de PGC1 $\alpha$  en respuesta al ejercicio es importante pues esta proteína está relacionada con un mejor rendimiento mitocondrial, aumento del consumo de oxígeno y síntesis de ATP, reducción de la producción de ROS y aumento de la capacidad mitofágica (Broskey et al., 2014).

En las proteínas relacionadas con la fusión mitocondrial, OPA1 y Mnf1, y la fisión mitocondrial DRP1, la literatura científica presenta resultados contradictorios de la respuesta de estas proteínas al ejercicio, no siendo posible establecer un comportamiento claro de los niveles de las mismas tras la realización de un programa de entrenamiento.

En el presente trabajo, no fueron encontradas diferencias significativas en la comparación intragrupo en estas tres proteínas. Tampoco, se observó diferencias para la comparación intergrupo, a pesar de haber sido encontrado un gran tamaño del efecto para las tres proteínas. A igual que nuestros resultados, Joseph et al. (2012) no encontraron diferencias inducidas por la actividad física en OPA1 y DRP1 en personas mayores. También Fealy et al. (2014) no observaron cambios en Mnf1 en personas mayores tras 12 semanas de entrenamiento aeróbico. En estudios con modelo animal, Gioscia-Ryan et al.

(2016), no observaron cambios en Mnf1 tras 10 semanas de ejercicio aeróbico voluntario en ratones, ni tampoco Picard et al. (2013), obtuvieron diferencias significativas en OPA1 en el músculo de ratones sometidos a una sesión de ejercicio aeróbico voluntario.

Sin embargo, existen evidencias que demuestran cambios inducidos por el ejercicio en estas proteínas (Fealy et al., 2014; Konopka et al., 2013; Bori et al., 2012; Koltai et al., 2012; Drummond et al., 2014; Gusdon et al., 2017). A pesar de los mecanismos por el cual el ejercicio podría promover cambios en estas proteínas ser desconocidos, parece que están relacionados con el mantenimiento de niveles más altos de fusión mitocondrial y los procesos de fisión durante el ejercicio (Ju et al., 2016).

#### 6.5.3.3. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin

Las proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin analizadas fueron PINK1, Parkin y VDAC1. Ninguna de ellas presentó cambios inducidos por el ejercicio del momento pre para el post entrenamiento. Igualmente, en la comparación intergrupo, las tres proteínas no presentaron diferencias significativas. No obstante, los valores de PINK1 y Parkin presentaron un grande tamaño del efecto.

A igual que nuestros resultados, Gram et al. (2014) tampoco encontraron diferencias inducidas por el ejercicio en VDAC1 del tejido muscular de personas mayores sometidas a 20 de entrenamiento aeróbico en cicloergómetro. En esta misma línea, Fealy et al. (2014), no observaron alteraciones en PINK1 y Parkin en células musculares de personas mayores tras 12 semanas de entrenamiento aeróbico, cinco veces por semana. Del mismo modo, Ogborn et al. (2015) hallaron que una única sesión de entrenamiento de fuerza con 4 series de 10 repeticiones a 75% de 1RM no fue capaz de promover cambios en VDAC1, PINK1 y Parkin en el músculo de personas mayores. A su vez, Drummond et al. (2014) que analizó muestras de

tejido muscular de mayores con distintos niveles de actividad física, observó que los niveles de PINK1 no fueron alterados por la práctica regular de actividad física, pero los niveles de Parkin se presentaron más elevados en las personas que practicaban más actividad física, comparados con sus congéneres sedentarios.

La disminución de la biodisponibilidad de estas proteínas de mitofagia de la vía PINK/Parkin puede indicar un incremento en la disfunción mitocondrial durante el envejecimiento (Drummond et al., 2014). En sentido contrario, su aumento inducido por la práctica regular de ejercicios físicos, podría promover el control de la calidad mitocondrial mediante una mayor activación de la maquinaria mitofágica (Scarffe et al., 2014). Sin embargo, todavía no hay un claro consenso en la literatura sobre la respuesta de estas proteínas al ejercicio, sin embargo, según nuestros resultados y los estudios encontrados en la literatura científica, parece que estas proteínas no sufren alteraciones en respuesta a la práctica del ejercicio. No obstante, es necesario un mayor número de evidencias para establecer con mayor precisión si el entrenamiento físico puede inducir alteraciones en la expresión de estas proteínas.

#### 6.5.3.4. Efecto de un programa de entrenamiento de fuerza sobre las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3

Las proteínas de mitofagia de la vía NIX/Bnip3 analizadas fueron NIX y Bnip3. NIX no presentó diferencias en la comparación intragrupo, pero Bnip3 incrementó en el GF en respuesta a las 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas. Además, en la comparación intergrupo, las dos proteínas presentaron valores significativamente más elevados en el GF, con un gran tamaño del efecto.

Con relación a NIX, Jamar et al. (2012) indica que el ejercicio fue responsable por promover un incremento en la expresión de mRNA para esta proteína en muestra de tejido muscular de atletas adultos tras la realización de una sesión de ejercicio aeróbico de muy larga duración. Por otro lado, tras la

realización de una sesión de entrenamiento de fuerza, Ogborn et al. (2015) no observaron alteraciones en la expresión de mRNA para NIX en el músculo de personas mayores.

En la misma línea de NIX, estudios que analizaron el comportamiento de Bnip3 frente al entrenamiento físico, presentan resultados distintos. Wohlgemuth et al. (2011) no observaron alteraciones en la expresión de mRNA para esta proteína en el tejido muscular de personas mayores tras realizar 24 semanas de entrenamiento combinando ejercicios aeróbicos y de fuerza. De forma semejante, Ogborn et al. (2015) no observaron cambios en la expresión de mRNA para Bnip3 en el músculo de personas mayores tras la realización de una sesión de entrenamiento de fuerza. Por otro lado, Drummond et al. (2014) en estudio que comparó personas mayores activas físicamente con sus congéneres sedentarios, encontró valores más elevados de mRNA para Bnip3 en las personas que presentaban niveles más elevado de actividad física. Ese resultado contrasta con el estudio de Zampieri et al. (2015) que encontraron cantidades menores de Bnip3 en muestras de tejido muscular de personas mayores físicamente activas, comparadas con personas mayores sedentarias.

Tanto para NIX, como para Bnip3 es posible verificar que no existe un comportamiento bien establecido de estas proteínas en respuesta al entrenamiento. Estas discrepancias entre los resultados de los distintos estudios quizás puedan ser explicadas por los diferentes abordajes metodológicos utilizadas en ellos, así como las distintas características de las muestras evaluadas en cada uno de los estudios.

Nuestros hallazgos con relación a NIX y Bnip3 indican un incremento de las mismas en respuesta al programa de entrenamiento, lo que puede ser entendido como un resultado positivo, ya que, estas proteínas están involucradas directamente en la regulación de la autofagia, ya que el aumento de sus expresiones inducida por el ejercicio puede indicar una mayor formación de autofagosomas y consecuentemente, un mayor flujo mitofágico.

Así, de manera general, parece que el entrenamiento de fuerza con cargas progresivas puede estimular la biogénesis mitocondrial y la mitofagia mediada por la vía NIX/Bnip3. Como sugerencia, creemos que los estudios

futuros deben investigar los efectos del entrenamiento de fuerza sobre las proteínas relacionadas a la biogénesis mitocondrial y las dos principales vías de mitofagia, utilizando diferentes protocolos de ejercicio físico, con distintos volúmenes e intensidades, así como tiempos de intervención más largos, con el objetivo de determinar de manera más específica cómo el ejercicio puede prevenir el daño mitocondrial y sus posibles efectos sobre las mitocondrias disfuncionales.

## ***7. Conclusiones***

---



## 7. CONCLUSIONES

A la vista de los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación y en función de los objetivos planteados en su inicio, es posible concluir que:

**1:** Un programa de entrenamiento de fuerzas con cargas progresivas de 8 semanas de duración en personas mayores de 70 años produce incremento de la fuerza dinámica máxima, de la fuerza isométrica y de la potencia muscular en distintas cargas.

**2:** Este mismo programa de entrenamiento puede mejorar la capacidad funcional, aumentando la movilidad, la velocidad de la marcha con cambios de dirección, la fuerza resistencia de los miembros inferiores y la resistencia aeróbica en personas mayores.

**3:** 8 semanas de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas no son suficientes para promover cambios en la salud ósea y producen solamente cambios discretos en la masa grasa y en la masa magra.

**4:** El proceso de envejecimiento parece afectar negativamente la capacidad autofágica y mitofágica del organismo, especialmente en las proteínas de mitofagia relacionadas con la vía NIX/Bnip3.

**5:** En personas mayores de 70 años, los niveles de las proteínas de señalización de la mitofagia parecen comportarse de manera semejante, independientemente del sexo del sujeto.

**6:** Un programa de entrenamiento de fuerzas con cargas progresivas de 8 semanas de duración en personas mayores de 70 años produce cambios positivos en las proteínas de macroautofagia, biogénesis mitocondrial y mitofagia, especialmente, en aquellas relacionadas la vía NIX/Bnip3 de la mitofagia.



## **8. *Limitaciones***

---



## 8. LIMITACIONES

Tras el análisis de los resultados y la confección de esta memoria, hay algunas observaciones que podrían ser planteadas como posibles limitaciones. En primer lugar, es viable considerar como una posible limitación la duración de la intervención, ya que el periodo de la intervención fue de 8 semanas y que los resultados aquí encontrados podrían ser diferentes tras un periodo más largo de entrenamiento, lo que sería más interesante para intervenciones con personas mayores.

Las características de la muestra también pueden considerarse como una posible limitación, ya que la muestra está compuesta por personas físicamente activas. Al ser físicamente activo el sujeto ya goza de adaptaciones propias de la práctica de actividad física regular, reflejando un potencial adaptativo al ejercicio más pequeño, comparado con personas sedentarias.

La falta de control del nivel de actividad física previo a la intervención, así como durante la misma posiblemente fue otra limitación a ser considerada en el presente estudio. Los voluntarios fueron cuestionados sobre su práctica de actividad física y afirmaron ser físicamente activos, pero, no fue realizada una cuantificación de esta actividad física, hecho que podría configurar una variable de confusión a la hora de analizar los resultados aquí obtenidos.

Por último, también es viable considerar como una posible limitación la falta de control de la ingesta nutricional de los voluntarios durante su participación en el estudio, ya que los cambios en la ingesta nutricional podrían conllevar a modificaciones en la composición corporal y en la salud ósea, ajenos a los asociados con el entrenamiento.



## ***9. Perspectivas futuras***

---



## 9. PERSPECTIVAS FUTURAS

El modelo utilizado en el presente estudio permitió avanzar en el tema de entrenamiento de fuerza y mitofagia en personas mayores, pero no fue posible controlar por completo todas las variables que pudieran influenciar los resultados, presentando ciertas limitaciones. Esas limitaciones, a su vez, abren la posibilidad para la realización de futuras investigaciones que se sugieren a continuación:

**1:** Evaluar los efectos de un programa de entrenamiento de fuerza con cargas progresivas de características semejantes a las del presente estudio, pero con un periodo de intervención más largo, como 12 o 16 semanas.

**2:** Incluir en futuras investigaciones grupos control y entrenamiento compuestos por personas físicamente activas y por personas sedentarias, con el objetivo de evaluar el efecto del programa de intervención en personas con distintos niveles de acondicionamiento físico, así como para poder verificar en qué medida los resultados encontrados pueden ser atribuibles a la intervención o al nivel de acondicionamiento físico individual.

**3:** Controlar la ingesta nutricional de los participantes de la investigación, ya que cambios en la misma podrían afectar no solamente a los resultados relacionados con la composición corporal, sino también a los resultados relacionados con las proteínas de señalización de la mitofagia.



## ***10. Aplicaciones prácticas***

---



## 10. APLICACIONES PRÁCTICAS

Los resultados y las informaciones aportadas por este trabajo permiten considerarlo para algunas aplicaciones en el campo práctico de actuación de los profesionales de las ciencias de la salud involucrados con la prescripción del entrenamiento de fuerza, como médicos y profesores de Educación Física, que se describen a continuación:

**1:** Un entrenamiento de fuerza con cargas progresivas con características semejantes a las del programa utilizado en este trabajo de investigación puede ser una estrategia rápida y eficiente para inducir incrementos en las diferentes manifestaciones de la fuerza muscular en los miembros inferiores y en la capacidad funcional de personas mayores de 70 años.

**2:** La revisión sistemática realizada en el presente trabajo y los resultados encontrados pueden servir como una herramienta útil en la prescripción de entrenamiento y en el diseño de programas de acondicionamiento, objetivando ganancias de fuerza muscular, capacidad funcional o aumento de la capacidad mitofágica a corto plazo.

**3:** Cuando el objetivo del programa de entrenamiento de fuerza sea promover cambios en la composición corporal o en la salud ósea, se recomienda la utilización de programas de entrenamiento de duración más larga que 12 semanas.



## **11. *English summary***

---



## **11. ENGLISH SUMMARY**



**UNIVERSITY OF LEON  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES**

# **STUDY OF MITOPHAGY IN RESPONSE TO A STRENGTH TRAINING PROGRAM FOR OLDER PEOPLE**

Oswaldo Costa Moreira

**DIRECTORS:**

**Dr. José Antonio de Paz Fernández**

**Dr. María José Cuevas González**

**León, 2018**



## ABBREVIATIONS AND SYMBOLS

$\Delta$	Absolute difference between pre and post values
$\mu\text{L}$	Micro liters
1RM	One-repetition maximum
2MST	<i>2 minutes step test</i>
30CST	<i>30s-chair stand test</i>
8FUG	<i>8 foot up-and-go test</i>
ACT	<i>Arm curl test</i>
ATG	Autophagy-related genes
ATP	Adenosine triphosphate
Bnip3	BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3
R_Arm	Right arm
L_Arm	Left arm
$\text{Ca}^{2+}$	Calcium
cm	Centimeters
CMA	Chaperone-mediated autophagy
BMC	Bone mineral content
WB	Whole body
SD	Standard deviation
BMD	Bone mineral density
DNA	Deoxyribonucleic acid
mtDNA	Mitochondrial DNA

Drp1	Dynamin-1-like protein
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
SEM	Standard error of the mean
ES	Effect size
Fis1	Mitochondrial fission 1 protein
MDS	Maximum dynamic strength
MIS	Maximum isometric strength
CG	Control group
STG	Strength training group
CI95%	Confidence interval of 95%
IMM	Inner mitochondrial membrane
Kg	Kilogram
LC3	Microtubule-associated proteins light chain 3
TBM	Total body mass
Mfn1	Mitofusin-1
FM	Fat mass
AFM	Android fat mass
GFM	Ginoid fat mass
min	Minutes
mL	Milliliters
LM	Lean mass
MMII	Lower limbs

---

MMSS	Upper limbs
MPTP	mitochondrial permeability transition pore
NIX	Bnip3-like protein X
OMM	Outer mitochondrial membrane
OPA1	Optic atrophy protein 1
p62/SQSTM1	Sequestosome-1 protein
Parkin	Ubiquitin-Protein-Ligase
PAR-Q	<i>Physical Activity Readiness Questionnaire</i>
PBMC	Peripheral blood mononuclear cell
PGC-1 $\alpha$	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha
R_Leg	Right leg
L_Leg	Left leg
PINK1	PTEN-induced kinase 1
MP	Mean power
PP	Peak power
ROI	Region of interest
ROS	Reactive oxygen species
SMD	Standardized differences of the mean
VDAC1	Voltage-dependent anion-selective channel 1
w	watts



## INTRODUCTION

Although the term aging allows different definitions, according to the area of study, from the biomedical perspective, the term aging refers to the changes suffered by molecules, cells, and populations or species with the passage of time. This process is characterized by the accumulation of faults at the molecular and cellular levels that manifest themselves in the functional decline at the level of tissues and organs (Zhang et al., 2016; Zhang, 2015).

Recently, it has been accepted that in order to understand the aging process, a systematic and integrating analysis must be carried out that covers the genes, the functioning of genetic maintenance and repair systems, the environment and chance (da Costa et al., 2016). Thus, most theories, if not all, could be classified into two categories: stochastic or error theories and deterministic theories or programmed hypotheses (da Costa et al., 2016; Lipsky, King, 2015).

Deterministic theories or programmed hypotheses propose that aging is genetically determined and organisms have an internal clock that programs longevity. Already stochastic theories, or error theories, propose that the accidental error and the accumulation of damage over time cause aging (Lipsky, King, 2015).

Among the theories of errors, one predominant idea is that of oxidative damage (Harman, 1981). Reactive oxygen species (ROS) are generated during metabolism and are considered to lead to cumulative damage to DNA, proteins and lipids (Piedrafita et al., 2015; Rinnerthaler et al., 2015; Thanan et al., 2014), where mitochondria are highlighted as one of the main sources of ROS in living cells (Di Meo et al., 2016).

Because mitochondria are the main producers of ROS in mammalian cells, mitochondrial DNA (mtDNA) is, therefore, particularly susceptible to oxidative damage (Hu et al., 2016). This, after replication, can result in mutations that lead defective components to the electron transport chain. The subsequent incorporation of these in the electron transport chain causes a greater increase in ROS species, which leads to a “vicious circle” of ROS production and mtDNA mutations that, over time, will lead to cellular damage at levels incompatible with life (Shokolenko et al., 2014). The maintenance of

mitochondrial function is, therefore, essential to preserve cellular homeostasis; on the other hand, its deterioration has been described as a factor responsible for triggering numerous human pathologies and aging (Gonzalez-Freire et al., 2015; Palikaras y Tavernarakis, 2014).

Specifically, in the locomotor system, the morphophysiological alterations caused by aging are related to the loss of bone mass, joint degeneration, loss of muscle mass and fat mass gain (Jaeger, 2011; Esquenazi et al., 2014; King y Lipsky, 2015). All the changes experienced by the locomotor system will result in a decrease in physical and functional capacity, with a consequent increase in the risk of falls and fractures (King y Lipsky, 2015).

Thus, due to the importance that the alterations suffered by the locomotor system have on the functional autonomy and health of the elderly, it is important to deepen the understanding of these alterations, so that the possible consequences of these alterations can be understood in the performance of the activities of the daily life of the elderly, as well as to draw up strategies that can control such changes and to minimize the consequences of them.

The loss of bone, muscle, and strength with advancing age can represent a great threat to the maintenance of functional independence in later life (Curtis et al., 2015), since, after 35 years of age there is a decrease in muscle function, strength, and power, as well as a reduction in muscle mass (Eduards et al., 2015). Additionally, a decrease in the amount of bone tissue from the fourth decade of life is also observed (Zimmermann, Busse y Ritchie, 2015).

The aging process can promote changes in body composition, causing that in individuals over 50 years, the rate of loss of muscle mass is 1 to 2% per year, the rate of muscle strength loss reach annual values from 1.5 to 3% and the rate of annual bone loss is from 1 to 2% (Curtis et al., 2015). All these changes lead to an increased risk of fractures, with advancing age, estimating that, after the fifth decade of life, one in two women and one in five men will suffer a fragility fracture (Lorentzon y Cummings, 2015). Thus, aging can affect bone health, as well as body composition, strength, and functional capacity.

However, the position of the American College of Sports Medicine (ACSM, 2011; ACSM, 2009) establishes that the practice of regular physical activity in older people results in positive adaptations in the organism that

contribute to a healthy aging, being beneficial in the reduction of the risk of development of the syndrome of fragility, of the risk of falls, of cognitive, cardiac, and pulmonary dysfunction, besides improving the physical capacity, the balance, the mobility, the strength/muscular power, the corporal composition, and the functional capacity. In particular, strength training seems to promote more robust results in functional capacity (Brady, Straight, Evans, 2014).

The American College of Sports Medicine (ACSM, 2011) proposes muscle strength training as a way to prevent diseases and to improve physical and functional capacity in people of all ages, especially in older people (ACSM, 2009).

In a systematic review of the literature on strength training in older people, the main results of the studies analyzed were the increase in maximum dynamic strength (MDS) (Correa et al., 2012; Gerage et al., 2013; Sayers y Gibson, 2014; Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014; Mejías-Peña et al., 2017; Scalon et al., 2014; Kim et al., 2015; Gennuso et al., 2013; Emerson et al., 2015; Pinto et al., 2014; Walker y Häkkinen, 2014; Frank et al., 2016; Lohne-Seiler, Torstveit y Anderssen, 2013), maximal isometric strength (MIS) (Gurjão et al., 2012; Kobayashi et al., 2016; Mejías-Peña et al., 2017; Rodriguez-Miguel et al., 2014; Walker y Häkkinen, 2014), muscle power (Valls et al., 2014; Sayers y Gibson, 2014; Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014; Zech et al., 2012) and functional capacity (Correa et al., 2012; Lee y Park, 2013; Granacher et al., 2013; Valls et al., 2014; Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014; Fragala et al., 2014; Lubans et al., 2013; Emerson et al., 2015; Pinto et al., 2014; Silva Correa et al., 2013; Smolarek et al., 2014). In addition, some studies reported increases in lean mass (LM) (Correa et al., 2012; Delshad et al., 2013; Kobayashi et al., 2016; Pinto et al., 2014; Frank et al., 2016) and reduction in fat mass (FM) (Zhao et al., 2017).

After conducting a meta-analysis in the collected studies, it was possible to conclude that strength training had a moderate to large effect on the MDS, MIS, muscle power, and functional capacity, as measured by the 8FUG and 30CST tests, in comparison with the control group. However, this intervention seems to have no effect on the LM and FM. Given that aging causes a

deterioration of functional autonomy, the implementation of interventions with strength training through public health initiatives can be an efficient strategy to reduce the risk of functional decline and physical disability among people over 65 years old.

In another way, the aging process can also be influenced and influence the molecular mechanisms that make cell survival and longevity viable. In eukaryotic organisms, the two main degradation pathways of cellular components are the proteasome and autophagy (Yin, Pascual y Klionsky,, 2016).

The term autophagy describes general catabolic pathways through natural processes, evolutionarily conserved, and regulated degradation of cellular components that systematically recycle unnecessary or dysfunctional components, generating a cell survival mechanism in response to different types of stressors (Lippai y Szatmári, 2017; Min et al., 2017; Jacob et al., 2017; Reggiori y Ungermann, 2017; Lin, 2017; Messer, 2017; Yin, Pascual y Klionsky,, 2016).

Autophagy is also responsible for various physiological processes including the control of cell quality, the maintenance of cellular and tissue homeostasis, the innate and adaptive immune response, cellular differentiation and development, as well as the process of cellular and tissue aging (Yin, Pascual y Klionsky,, 2016). Additionally, autophagy is related to the recycling of nutrients and the elimination of damaged or dysfunctional organelles, protein aggregates and invading pathogens (Lin, 2017).

It can act in two ways, in a non-selective way (non-selective autophagy), sequestering portions of the cytoplasm in a non-specific way (Reggiori y Ungermann, 2017; Min et al., 2017), for example, when induced by nutritional deprivation or disturbances metabolic, autophagy is relatively non-selective, being able to degrade any part of the cytoplasm indistinctly (Yin, Pascual y Klionsky,, 2016). On the other hand, autophagy can act in a highly selective manner (selective autophagy), eliminating different structures through the use of autophagy receptors and signaling proteins and, depending on its objectives, it can receive different names (Reggiori y Ungermann, 2017; Min et al., 2017). Selective autophagy facilitates the elimination of dysfunctional or excessive structures before they become harmful to cells (Yin, Pascual y Klionsky,, 2016).

To date, three primary types of autophagy have been detected in the cells of eukaryotic organisms, microautophagy, chaperone-mediated autophagy (CMA) and macroautophagy (Min et al., 2017; Lippai y Szatmári, 2017; et al., 2017; Wu y Adamopoulos, 2017).

Decreased levels of basal autophagy are associated with the accumulation of malformed or damaged proteins/genes and dysfunctional organelles, such as mitochondria. These dysfunctional structures are associated with neurodegenerative diseases, some types of cancer and systemic inflammation (Yin, Pascual y Klionsky,, 2016). However, increased autophagic flow can promote the clearance of proteins, genes and/or dysfunctional organelles, helping to improve cell function, prolong lifespan, and prevent cell death, suggesting autophagy as an anti-aging mechanism (Yin, Pascual y Klionsky,, 2016).

Because mitochondria are involved in both adaptive metabolism and survival in response to cellular stress, it is necessary to maintain good mitochondrial functioning through mitochondrial quality control (Payne y Chinnery,, 2015). Recently, mitophagy has gained importance because the damage accumulated in the mitochondria can result in a large number of cellular consequences. This process of elimination of dysfunctional mitochondria occurs by two main pathways, mitophagy induced by damage and development-induced mitophagy (Novak, 2012). Mitophagy not only eliminates dysfunctional mitochondria, but also participates in the adaptive response to nutrient deprivation, hypoxia, or developmental cues, promoting a reduction in the total mitochondrial mass (Springer y Macleod, 2016).

The proper maintenance of mitochondrial quantity and quality is strictly related to the conservation of an adequate concentration of several proteins, such as PGC-1 $\alpha$ , OPA1, PINK1, Parkin1, VDAC1, Bnip3, and NIX, which are involved in biogenesis and mitochondrial dynamics and in the process of mitophagy. However, the organic alterations characteristic of aging can modify the concentration of these proteins, destabilizing their functions.

Aging seems to decrease mitochondrial biogenesis (PGC-1 $\alpha$ ) (Gioscia-Ryan et al., 2016; Kang et al., 2013; Picca et al., 2013b; Joseph et al., 2012; Koltai et al., 2012; Safdar et al., 2010; Viña et al., 2009; Lanza et al., 2008; Chabi et al., 2008) and increase levels of OPA1 (Capitanio et al., 2016a; Leduc-

Gaudet et al., 2015; Stauch, Purnell y Fox, 2014; O'Leary et al., 2013), which can control mitophagy by promoting the stabilization of mitochondrial crests.

Regarding PINK1 and Parkin1, both play a key role as a mechanism for maintaining cell integrity and activating mitophagy (Knuppertz y Osiewacz, 2016). The expression of PINK1 seems to increase in the muscle of old rats, which could be a consequence of the accumulation of lipofuscin within the lysosomes, resulting in an accumulation of cell debris (O'Leary et al., 2013). On the other hand, the deregulation of mitochondrial dynamics with aging leads to the accumulation of dysfunctional mitochondria, which could lead to the recruitment of Parkin1 in order to control mitochondrial quantity and quality (Scarffe et al., 2014).

VDAC1 determines the permeability and conductance of the OMM and plays an important role as modulator of the MPTP (Ding y Yin, 2012). Some studies indicate that, apparently, aging does not decrease the expression of this protein in human muscles when young and older people are compared (Ogborn et al., 2015; Gram et al., 2014).

The literature does not seem to be very conclusive about the effect of aging on the expression of Bnip3 (Sebastián et al., 2016; Zampieri et al., 2015; Sebastián et al., 2016; Capitano et al., 2016b; Distefano et al., 2017; Ogborn et al., 2015). On the other hand, the effect of aging on NIX and subsequently on autophagy and mitochondrial clearance in the skeletal muscles is hardly known, and does not seem to be conclusive (Ko et al., 2016; O'Leary et al., 2013; Palikaras, Lionaki y Tavernarakis, 2015; Sgarbi et al., 2014).

In general, although it has been observed that aging is associated with the decrease of mitochondrial function, the accumulation of abnormal mitochondria and the decrease of the mitophagic capacity of the organism, the studies analyzed do not show a consensus in relation to most proteins involved in this process.

Physical exercise has been proposed as a non-pharmacological treatment against different diseases for people of all ages (Haskell et al., 2007). In addition, it is suggested that exercise practice could promote an increase in mitophagic capacity (Carter, Chen y Hood, 2015) and produce effects in the mitochondrial life cycle.

In fact, regular physical exercise induces gene expression of PGC-1 $\alpha$  in the skeletal muscles of the elderly (humans and rodents) (Konopka et al., 2014, Broskey et al., 2014, Kang et al., 2013, Koltai et al. al., 2012; Cobley et al., 2012; Safdar et al., 2010; Palacios et al., 2009). OPA1 is another protein that may be unchanged (Picard et al., 2013; Joseph et al., 2012) or augmented (Fealy et al., 2014) in response to exercise.

In relation to the proteins involved in mitophagy it is possible to consider that an increase in the bioavailability of PINK1 and Parkin1, caused by exercise may be an attempt to promote the control of mitochondrial quality through the action of the mitophagic machinery (Scarffe et al., 2014). However, there is no consensus on the effects of exercise during aging (Ogborn et al., 2015; Fealy et al., 2014; Drummond et al., 2014).

VDAC1, another protein ubiquitinated by Parkin1, appears to show no alterations in response to exercise (Ogborn et al., 2015; Gram et al., 2014). On the other hand, it seems that exercise can stimulate the increase of NIX expression and, consequently, of mitophagy, although the mechanism by which exercise produces this increase is not clear (Jamart et al., 2012). Already Bnip3 is another protein that does not seem to have a very clear behavior in response to exercise (Drummond et al., 2014; Zampieri et al., 2015; Ogborn et al., 2015; Wohlgemuth et al., 2011).

Therefore, it seems that exercise stimulates mitochondrial biogenesis and dynamics and mitophagic capacity, although there is no consensus on the behavior of different proteins in response to a physical stimulus.

## **OBJECTIVES**

### **General objective**

To analyze the effects of a strength training program with progressive loads on the different muscle strength manifestations, functional fitness indicators, body composition, and signaling proteins of mitophagy in elderly people.

### **Specific objectives**

- Identify the adaptations produced by a strength training program with progressive loads on the different manifestations of muscle strength, indicators of functional aptitude, and body composition in elderly people.
- Contrast the profile of the signaling proteins of the mitophagy of elderly people, compared to that of young subjects.
- Compare the profile of the signaling proteins of mitophagy in elderly people, according to sex.
- Establish the effect of a strength training program with progressive loads on the proteins of macroautophagy, mitochondrial dynamics, and mitophagy in elderly people.

## METHODS

### Participants

The population under study is constituted by elderly people, between 70 and 77 years old, living in León/Spain.

The inclusion criteria adopted were: to be between 70 and 77 years old, to be clinically fit for the regular performance of physical exercises, to possess a level of functional independence that would allow carrying out the proposed exercises, not to present any acute or chronic uncontrolled disease that could be affected by the practice of the exercises, to be physically active and to consent freely and voluntarily to perform all the study procedures.

The exclusion criteria were: to present any bone or joint limitation that prevented the performance of the evaluations, to have a level of cognitive deficiency that affected the understanding of the procedures to be performed, or to be using, prior to the experimental phase, hormonal medications, or anti-inflammatories.

Those volunteers who fulfilled all the inclusion criteria and who did not present any exclusion criteria were admitted to the study, and they filled in the questionnaire of aptitude for the practice of regular physical exercises (Physical Activity Readiness Questionnaire - PAR-Q) (Chisholm et al., 1975; Shepard, 1988), as well as informed consent for participation in the study, which was previously approved by the Ethics Committee for research with human beings of the University of León, in accordance with the Declaration of Helsinki.

In addition to these 48 volunteers, 12 young men, aged between 18 and 24 years, were also evaluated by blood extraction, in order to know the reference values for the autophagic and mitophagic variables, in a group of people who possess fullness of its functional and physiological capacity. In this way, it can be established whether, after the performance of the strength training program, the values of the autophagic and mitophagic variables in the elderly approached the values of the same variables in the young.

## **Body composition assessment**

The volunteers underwent a whole-body scan with the General Electric densitometer, Lunar Prodigy model and Encore 2009 software, version 13.0, to measure body composition. The device was properly calibrated before carrying out the scans.

The examination of each volunteer was made by keeping rest, whenever possible removing all the accessories that could interfere or falsify the results of the measurement. The subject was required to lie in the supine position on the apparatus, with the upper limbs (MMSS) extended parallel to the trunk, with the hands in pronation and supported on the surface of the stretcher. The lower limbs (MMII) were also extended, with standard separation at hip width and fixed by a tape that maintained the separation comfortably (Moreira et al., 2015).

Each exploration lasted approximately 7 minutes and through them, measurements of total body mass (TBM), fat mass (FM), lean mass (LM), bone mineral content (BMC) and bone mineral density (BMD) were made. In addition, a specific region of the LM of the MMII was defined, called the region of interest (ROI), from the femorotibial interline to the point of contact with the line that passes through the lower edge of the two ischia, being the same points considered for the right thigh and the left thigh. The medial and lateral delimitation of the ROI was plotted to collect all the soft tissue of the segment.

## **Strength manifestations assessment**

In the MIS evaluation of MMII, a load cell or Globus Ergometer® strain gauge with a sampling frequency of 1000 Hz and the Globus Ergo Tester software v1.5, Italy were used. The execution of the test was carried out in a knee extension machine, the evaluated being seated in the machine with the head and the trunk resting on the back of the seat, grasping with the hands the lateral supports and keeping the knees in flexion of 90 ° (Medina-Perez et al., 2014; Patiño-Villada, Arboleda-Franco y Paz-Fernández, 2015). The evaluated patient should perform a maximum isometric tension of the quadriceps femoris

for 5 seconds. Two attempts were made, separated by an interval of 2 minutes of rest between them, being considered the highest value of the two attempts as the MIS.

The same procedures were used to evaluate the MIS of MMSS, in a bench press machine. For the execution of the test, the evaluated sat on the machine with the head and trunk resting on the back of the seat, grasping the hands at the controls of the lever, with abduction of 90° of the shoulder and flexion of 90° of the elbow.

The MDS was evaluated in a knee extension machine. The initial position of the evaluated one was, sitting with the head and the back supported in the endorsement of the apparatus, the hands grasping the lateral support and the knees in flexion of 90°. To carry out this test, the volunteer was asked to extend the legs until the knee formed an angle of approximately 180° (final position) and to return to the initial position.

Prior to the determination of the one-repetition maximum (1RM), a previous specific heating was performed consisting of 4 repetitions with 50% of the load obtained in the MIS test. At the end of the warm-up, the evaluated person was asked for his/her perception of effort, by means of an OMNI-RES scale from 0 to 10 (Robertson et al., 2003; Gearhart et al., 2011). Then, the weight was increased at the discretion of the evaluator, according to the ease of execution and the perception of the evaluated effort, and the volunteer was asked to execute two repetitions with the new weight. The weight was increased until the performer managed to do only one repetition. A maximum of 5 loading attempts were made for the determination of the 1RM, with a rest interval of 2 minutes between each attempt. The values of the 1RM were defined in kilograms.

The same procedures were used to evaluate the MIS of MMSS, in a bench press machine. The initial position of the evaluated was the same one used to evaluate the MIS, that is to say, seated with the head and the back supported in the backrest of the apparatus, the shoulders in abduction of 90°, the elbows in flexion of 90° and the hands holding the control of the lever arm. To carry out this test, the volunteer executed the horizontal adduction of the shoulder and the extension of the elbows until reaching an angle of approximately 180° (final position) and return to the initial position

The muscular power of MMII was evaluated in a knee extension machine, starting from the same initial position (90° of knee flexion) and arriving at the same final position (180° of knees extension) of the 1RM test. Five different loads were used for the evaluation of the power, obtained from percentage values of the 1RM (40%, 50%, 60%, 70%, and 80% of 1RM), where the evaluated was asked to perform the extension movement of the knees (concentric phase of movement) at the highest possible speed. The loads of this test were randomized in each subject to control a possible bias related to the learning effect or cumulative action of fatigue. In each load, 2 repetitions were performed with 2 minutes of rest interval between the loads (Medina-Perez et al., 2014).

A linear position transducer or Globus Real Power® Encoder, Italy, with a sampling frequency of 1000 Hertz, a Tesys 800 central unit and the Tesys 2008-Real Power 20.40 Test Software, were used to determine the power values. Through this instrument, it was possible to obtain information about average power (w) and peak power (w).

### **Functional capacity assessment**

The Senior Fitness Test (Rikli y Jones, 1999; Rikli y Jones, 2013) was used to evaluate the functional capacity of the volunteers. This battery is composed of arm curl test (ACT), 30s-chair stand test (30CST), 2 minutes step test (2MST) and 8 foot up-and-go test (8FUG). In all cases, the techniques and the conditions for the execution of the tests were explained to the person evaluated, both verbally and by demonstration, and rehearsals were made to familiarize them. During the realization of all the tests, the volunteers were encouraged to make the maximum possible effort in each of the tests, with constant verbal stimuli by the evaluator.

## **Obtaining blood samples and protein quantification**

A volume of 24 mL of blood was collected by puncture of the brachiocephalic vein, between 5 and 6 days before and after the training period, using the Vacutainer system (BD, Franklin Lakes, NJ, USA) with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) as an anticoagulant, always at the same time and under fasting conditions of 8 hours. The isolation of peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was made in accord of the procedure described by Cuevas et al. (2005).

The quantification of total proteins from the PBMC samples was carried out by a modification of the Bradford method (Bradford, 1976). Next, a sample volume equivalent to 25 µg of protein was taken for separation by polyacrylamide gel electrophoresis with sodium dodecyl sulfate. For the analysis of PGC1 $\alpha$ , Mfn1, DRP1, OPA1, Parkin, PINK1, HSP60, and p62, 9% gels were used and for the analysis of Bnip3, NIX, VDAC1, and LC3, 14% gels were used. In addition, in order to perform a protein control, in each of the gels, the  $\beta$ -actin protein was analyzed as a load control. The specific primary antibodies used in the Western Blot technique to detect and quantify proteins can be seen in Table 6 (Spanish version, page 104).

## **Procedures and strength training protocol**

The 48 volunteers were divided into 2 groups. Those belonging to the control group (CG), during the realization of this study, were oriented to maintain their daily routines of physical activity and exercise, with the only condition that they did not perform any type of strength training.

The volunteers belonging to the strength training group (STG) were oriented to maintain their daily routines of physical activity and exercise, in addition to carrying out an individualized program of strength training. This program had a total duration of 8 weeks (16 sessions), with a frequency of 2 training sessions per week, with a recovery interval of at least 48 hours between sessions. The duration of the training program was based on other studies previously carried out by our research group (Rodríguez-Miguel et al., 2014;

Rodriguez-Miguel et al., 2015; Mejías-Peña et al., 2016), and the frequency was chosen according to the minimum recommended for health promotion by the American College of Sports Medicine (ACSM, 2009a; ACSM, 2009b; ACSM, 2011).

The training program began one week after the initial evaluations and each training session began with a standardized warming cycle, followed by eight strength exercises for the main muscle groups (ACSM, 2009a; ACSM, 2009b). The exercises performed were the chest contractor, the pulley on the high pulley, the leg press, the lateral lifting with dumbbells, the biceps curl on the bench, the extension of the ankles, the bench press on the machine and the extension kneeling in the machine. Participants performed 3 sets of 8 and 12 repetitions for each exercise. Training intensity was defined by subjective perception of effort, starting at 5-6 and reaching 7-8 on the OMNI-RES scale (0 to 10) (Robertson et al., 2003; Gearhart et al., 2011), according to recommendations of the American College of Sports Medicine (ACSM, 2009a). The interval of recovery between the series of the exercises was 2-3 min and the speed of execution recommended to the participants was moderate, that is, 2 seconds for the concentric phase of movement and 2 seconds for the eccentric phase of movement (ACSM, 2009b).

### **Statistical analysis**

All the statistical analyzes were carried out in the statistical program SPSS for Windows, version 23 (IBM, Chicago, USA). Initially, the data were subjected to the Shapiro-Wilk normality test. Next, the descriptive analysis of the data was made, through the mean and the standard deviation (SD).

To determine the changes presented during the intervention, calculations were made of the differences between the pre- and post-values for each variable, being expressed as absolute delta ( $\Delta$ ).

Intra group comparisons were made using the Wilcoxon test. Intergroup comparisons were already made through the Mann-Whitney test. The effect size was calculated by Cohen's D test, with a confidence interval of 95% (CI95%).

For all treatments, a level of statistical significance of  $p \leq 0.05$  was established.

## RESULTS

### Maximum strength

The results obtained from the MIS and the MDS in the extension exercises of knees (MMII) and bench press (MMSS) are shown in Table 1.

The STG presented increases in strength in both MMSS and MMII after eight weeks of strength training.

**Table 1. Intragroup comparisons of MIS and MDS between pre and post-training moments.**

		CG (n=16)			STG (n=29)			p-value
		Mean	SD	ES	Mean	SD	ES	
MIS_MMSS (Kg)	pre	41.26	23.64	-16.65 (-1.02; 0.37)	48.47	23.15	45.60 (0.11; 1.14)	0.545
	post	33.65	17.23		62.98	28.75***		
MIS_MMII (Kg)	pre	61.75	21.12	3.02 (-0.63; 0.75)	75.97	26.80	39.92 (-0.08; 0.95)	0.089
	post	62.98	15.33		87.62	29.48***		
MDS_MMSS (Kg)	pre	54.00	16.58	-37.50 (-1.36; 0.05)	54.97	24.85	53.65 (0.14; 1.18)	0.947
	post	43.14	8.28*		71.31	25.11***		
MDS_MMII (Kg)	pre	55.71	20.35	2.00 (-.066; 0.73)	70.93	25.60	54.71 (0.16; 1.20)	0.052
	post	56.44	11.38		88.28	26.42***		

MIS: maximum isometric strength; MDS: maximum dynamic strength; MMII: lower limbs; MMSS: upper limbs; ES: effect size; \*:  $p < 0.05$  for comparison pre x post; \*\*\*:  $p < 0.001$  for comparison pre x post.

When the two groups are compared, the STG also presented an absolute difference between the pre- and post-training values higher than the CG as can be seen in Table 2.

**Table 2. Comparisons of absolute differences (absolute delta) for MIS and MDS between the two groups.**

	CG (n=16)		STG (n=29)		p-value	ES
	Mean	SD	Mean	SD		
$\Delta$ _MIS_MMSS (Kg)	5.45	8.21	13.67	9.70	0.027	53.62 (0.38; 1.63)
$\Delta$ _MIS_MMII (Kg)	6.01	8.19	10.61	10.38	0.229	28.37 (-0.05; 1.18)
$\Delta$ _MDS_MMSS (Kg)	-6.00	5.80	15.31	7.69	<0.001	178.65 (2.90; 4.45)
$\Delta$ _MDS_MMII (Kg)	5.67	9.11	16.03	9.04	0.002	69.94 (0.51; 1.76)

$\Delta$ : absolute difference between pre and post values; MIS: maximum isometric strength; MDS: maximum dynamic strength; MMII: lower limbs; MMSS: upper limbs; ES: effect size.

## Muscle power

The results exhibited by STG indicate significant changes in the mean and peak power at 40%, 50%, 60%, 70%, and 80% of 1RM (Table 3). Comparing the two groups, the STG also presented higher values for the average power and peak power at 40% and 50% of 1RM (Table 4).

**Table 3. Intragroup comparisons of muscle power between pre and post-training moments.**

	CG (n=16)			STG (n=29)			p-value
	Mean	SD	ES	Mean	SD	ES	
MP_40% (w)	pre	157.67	43.81	235.47	86.18		0.006
	post	179.33	46.45	0.49 (-0.36; 1.35)	284.24	89.36***	
PP_40% (w)	pre	397.42	126.25	533.57	199.30		0.042
	post	369.56	99.64	-0.22 (-1.07; 0.63)	652.59	279.77***	
MP_50% (w)	pre	173.42	43.64	249.93	94.24		0.014
	post	181.22	47.19	0.18 (-0.67; 1.03)	298.52	97.69***	
PP_50% (w)	pre	379.42	120.42	553.90	232.11		0.015
	post	362.33	95.68	-0.14 (-0.99; 0.71)	640.38	240.56**	
MP_60% (w)	pre	174.92	36.61	255.45	90.88		0.015
	post	186.78	39.25	0.32 (-0.53; 1.18)	303.86	109.50***	
PP_60% (w)	pre	355.83	81.85	562.93	211.12		0.007
	post	377.00	89.64	0.26 (-0.59; 1.11)	745.45	443.26**	
MP_70% (w)	pre	174.42	33.44	246.27	95.19		0.051
	post	176.00	41.62	0.05 (-0.80; 0.90)	286.41	111.95**	
PP_70% (w)	pre	345.67	89.93	534.43	244.59		0.017
	post	377.89	168.69	0.36 (-0.50; 1.21)	632.10	250.91**	
MP_80% (w)	pre	152.50	42.10	227.15	100.01		0.038
	post	152.67	42.56	0.00 (-0.85; 0.85)	267.14	113.90*	
PP_80% (w)	pre	348.25	192.73	504.04	272.21		0.057
	post	299.00	86.33	-0.26 (-1.11; 0.60)	809.69	830.57*	

MP: average power; PP: peak power; ES: effect size; \*:  $p < 0.05$  for comparison pre x post; \*\*\*:  $p < 0.001$  for comparison pre x post.

**Table 4. Comparisons of absolute differences (absolute delta) for muscle power between the two groups.**

	CG (n=16)		STG (n=29)		p-value	ES
	Mean	SD	Mean	SD		
$\Delta$ _MP_40% (w)	18.11	25.63	44.55	26.86	0.027	1.03 (0.41; 1.66)
$\Delta$ _PP_40% (w)	-53.44	147.47	114.90	125.28	0.002	1.14 (0.51; 1.77)
$\Delta$ _MP_50% (w)	8.33	25.38	44.79	43.63	0.005	1.44 (0.80; 2.07)
$\Delta$ _PP_50% (w)	-3.89	67.36	79.28	118.32	0.039	1.23 (0.60; 1.87)
$\Delta$ _MP_60% (w)	17.11	23.65	47.82	43.08	0.083	1.30 (0.67; 1.93)
$\Delta$ _PP_60% (w)	32.44	39.87	188.39	407.09	0.063	3.91 (3.12; 4.70)
$\Delta$ _MP_70% (w)	5.11	35.40	36.07	55.36	0.135	0.87 (0.25; 1.50)

$\Delta$ _PP_70% (w)	40.89	143.61	88.45	240.03	0.127	0.33 (-0.28; 0.94)
$\Delta$ _MP_80% (w)	5.11	35.40	36.07	55.36	0.135	0.87 (0.25; 1.50)
$\Delta$ _PP_80% (w)	-54.33	203.16	330.54	800.97	0.163	1.89 (1.24; 2.55)

$\Delta$ : absolute difference between pre and post values; MP: average power; PP: peak power; ES: effect size.

## Functional capacity

In the functional capacity tests (Table 5), STG showed significant improvements in all tests, after eight weeks of strength training.

**Table 5. Intragroup comparisons of functional capacity tests between pre and post-training moments.**

		CG (n=16)			STG (n=29)			p-value
		Mean	SD	ES	Mean	SD	ES	
8FUG (s)	pre	5.01	0.74		4.93	0.76		0.437
	post	5.16	0.91	0.20 (-0.066; 1.06)	4.25	0.41***	-0.89 (-1.42; -0.37)	
30CST (rep)	pre	20.64	5.60		18.60	4.64		0.318
	post	19.88	5.77	-0.14 (-0.99; 0.72)	22.93	3.78***	0.93 (0.41; 1.46)	
ACT (rep)	pre	18.92	4.80		17.07	3.44		0.101
	post	21.13	3.48	0.46 (-0.41; 1.33)	22.76	3.28***	1.65 (1.12; 2.19)	
2MST (rep)	pre	110.36	21.12		116.87	22.05		0.427
	post	117.00	20.17	0.31 (-0.55; 1.18)	144.72	19.21***	1.26 (0.73; 1.79)	

8FUG: 8 foot up-and-go test; 30CST: 30s–chair stand test; ACT: arm curl test; 2MST: 2 minutes step test; ES: effect size; \*\*\*:  $p < 0.001$  for comparison pre x post.

The intergroup comparison shows that the STG also presented better values in all the functional capacity tests evaluated.

**Table 6. Comparisons of absolute differences (absolute delta) for functional capacity tests between the two groups.**

	CG (n=16)		STG (n=29)		p-value	ES
	Mean	SD	Mean	SD		
$\Delta$ _8FUG (s)	0.11	0.68	-0.58	0.40	0.005	-1.01 (-1.82; -0.21)
$\Delta$ _30CST (rep)	-0.63	4.37	4.17	3.73	0.009	1.10 (0.29; 1.91)
$\Delta$ _ACT (rep)	1.63	3.81	5.59	3.27	0.012	1.04 (0.23; 1.84)
$\Delta$ _2MST (rep)	5.33	11.64	26.31	13.45	0.004	1.80 (0.95; 2.65)

$\Delta$ : absolute difference between pre and post values; 8FUG: 8 foot up-and-go test; 30CST: 30s–chair stand test; ACT: arm curl test; 2MST: 2 minutes step test; ES: effect size

## Body composition

The results related to body composition are shown in Table 7. The STG showed decreases in total body FM of arms, of right leg, and the GFM. Further, an increase in LM of left leg was also observed after eight weeks of strength training. No significant results were found in the bone health indicators.

**Table 7. Intragroup comparisons of body composition variables between pre and post-training moments.**

		CG (n=16)			STG (n=29)			p-value
		Mean	SD	ES	Mean	SD	ES	
LM_WB (kg)	pre	40.99	7.74		45.41	10.06		0.208
	post	39.12	5.56	-0.24 (-1.09; 0.61)	46.62	10.16	0.12 (-0.39; 0.64)	
FM_WB (kg)	pre	25.96	8.49		23.73	6.05		0.364
	post	29.58	7.11	0.43 (-0.43; 1.28)	23.16	6.13**	-0.09 (-0.61; 0.42)	
TBM (kg)	pre	69.33	10.66		71.58	13.09		0.579
	post	70.98	11.10	0.15 (-0.69; 1.00)	72.26	12.99	0.05 (-0.46; 0.57)	
LM_R_Arm (kg)	pre	2.38	0.60		2.60	0.78		0.545
	post	2.04	0.22	-0.57 (-1.43; 0.29)	2.66	0.70	0.08 (-0.44; 0.59)	
LM_L_Arm (kg)	pre	2.20	0.60		2.42	0.72		0.450
	post	1.82	0.30	-0.63 (-1.50; 0.23)	2.43	0.64	0.01 (-0.50; 0.53)	
LM_R_Leg (kg)	pre	6.39	1.36		7.14	1.66		0.166
	post	6.17	0.79	-0.16 (-1.01; 0.69)	7.49	1.73	0.21 (-0.30; 0.73)	
LM_L_Leg (kg)	pre	6.33	1.39		6.92	1.66		0.326
	post	5.95	0.69	-0.27 (-1.12; 0.58)	7.31	1.84*	0.23 (-0.28; 0.75)	
FM_R_Arm (kg)	pre	1.42	0.63		1.17	0.35		0.208
	post	1.45	0.36	0.05 (-0.80; 0.90)	1.11	0.33**	-0.17 (-0.69; 0.34)	
FM_L_Arm (kg)	pre	1.30	0.56		1.10	0.36		0.174
	post	1.27	0.25	-0.05 (-0.90; 0.80)	1.02	0.33**	-0.22 (-0.74; 0.29)	
FM_R_Leg (kg)	pre	3.87	1.57		3.22	1.02		0.217
	post	4.66	1.18	0.50 (-0.35; 1.36)	3.13	1.05*	-0.09 (-0.60; 0.43)	
FM_L_Leg (kg)	pre	3.81	1.51		3.10	0.97		0.118
	post	4.52	1.20	0.47 (-0.39; 1.33)	3.03	1.01	-0.07 (-0.59; 0.44)	
AFM (kg)	pre	2.74	0.95		2.62	0.92		0.614
	post	2.98	0.95	0.25 (-0.60; 1.10)	2.57	0.92	-0.05 (-0.57; 0.46)	
GFM (kg)	pre	4.24	1.58		3.79	0.97		0.351
	post	4.97	1.04	0.46 (-0.39; 1.32)	3.51	0.98**	-0.29 (-0.80; 0.23)	

LM: lean mass; FM: fat mass; TBM: total body mass; WB: whole body; R\_Arm; right arm; L\_Arm: left arm; R\_Leg: right leg; L\_Leg: left leg; AFM: android fat mass; GFM: ginoid fat mass; ES: effect size; \*: p<0.05 for comparison pre x post; \*\*\*: p<0.001 for comparison pre x post.

In the intergroup comparison it was only possible to verify a significant difference in the AFM (Table 8).

**Table 8. Comparisons of absolute differences (absolute delta) for body composition variables between the two groups.**

	CG (n=16)		STG (n=29)		p-value	ES
	Mean	SD	Mean	SD		
LM_WB (kg)	0.16	0.38	0.19	0.89	0.724	0.08 (-0.53; 0.69)
FM_WB (kg)	0.08	0.47	-0.62	0.96	0.071	-1.49 (-2.13; -0.85)
TBM (kg)	0.23	0.48	-0.44	1.24	0.099	-1.40 (-2.03; -0.76)
LM_R_Arm (kg)	-0.13	0.27	-0.04	0.21	0.289	0.33 (-0.28; 0.95)
LM_L_Arm (kg)	-0.14	0.32	-0.08	0.20	0.753	0.19 (-0.42; 0.80)
LM_R_Leg (kg)	0.05	0.22	0.20	0.51	0.432	0.68 (0.07; 1.30)
LM_L_Leg (kg)	-0.01	0.36	0.25	0.52	0.126	0.72 (0.10; 1.34)
FM_R_Arm (kg)	-0.17	0.37	-0.06	0.11	0.844	0.30 (-0.31; 0.91)
FM_L_Arm (kg)	-0.20	0.39	-0.08	0.11	0.875	0.31 (-0.30; 0.92)
FM_R_Leg (kg)	-0.10	0.25	-0.01	0.33	0.610	0.36 (-0.25; 0.97)
FM_L_Leg (kg)	-0.11	0.21	0.02	0.35	0.432	0.62 (0.00; 1.23)
AFM (kg)	0.12	0.17	-0.11	0.33	0.023	-1.35 (-1.99; -0.72)
GFM (kg)	-0.18	0.28	-0.22	0.26	0.753	-0.14 (-0.75; 0.47)

LM: lean mass; FM: fat mass; TBM: total body mass; WB: whole body; R\_Arm; right arm; L\_Arm: left arm; R\_Leg: right leg; L\_Leg: left leg; AFM: android fat mass; GFM: ginoid fat mass; ES: effect size.

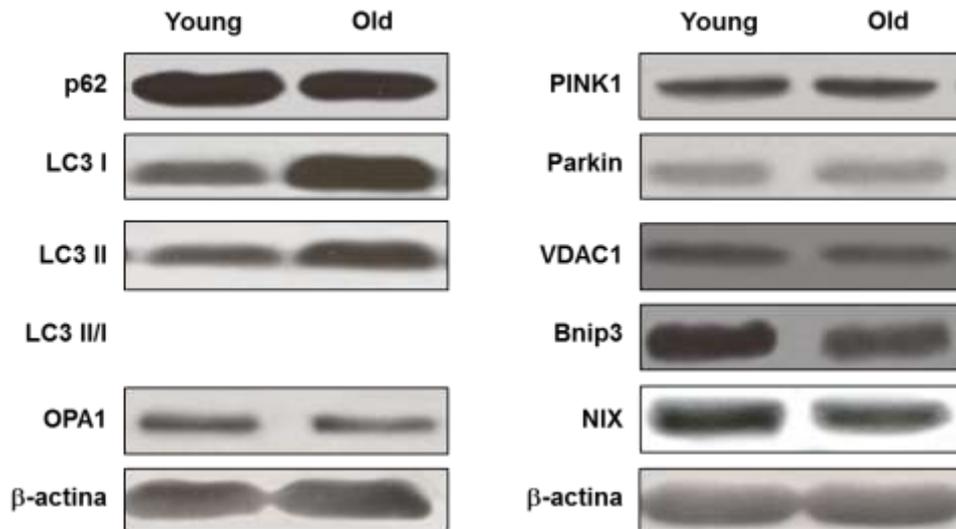
### Effect of aging on mitophagy signaling proteins

The elderly presented decreased levels for p62, VDAC1, and NIX proteins. In addition to presenting increased levels of LC3 I and II (Table 9).

**Table 9. Comparison of relative values of mitophagy signaling proteins between young and older males.**

	Young (n=11)		Older (n=8)		p-value	ES
	Mean	SD	Mean	SD		
p62 (%)	100.00	18.98	68.01	13.60	0.048	-1.69 (-2.72; -0.65)
LC3I (%)	85.07	30.46	142.83	40.26	0.048	1.90 (0.83; 2.97)
LC3II (%)	85.58	48.34	147.16	41.14	0.021	1.27 (0.29; 2.26)
LC3II/I (%)	1.04	0.23	0.94	0.17	0.967	-0.43 (-1.35; 0.48)
OPA1 (%)	100.00	36.25	76.92	20.36	0.248	-0.64 (-1.57; 0.29)
PINK1 (%)	100.00	46.52	73.03	10.45	0.563	-0.58 (-1.51; 0.35)
Parkin (%)	114.25	32.72	90.14	10.99	0.247	-0.74 (-1.67; 0.20)
VDAC1 (%)	100.00	41.56	64.12	17.01	0.117	-0.86 (-1.81; 0.08)
Bnip3 (%)	100.00	23.06	77.67	32.87	0.013	-0.97 (-1.92; -0.01)
NIX (%)	100.00	18.36	52.23	18.92	0.02	-2.60 (-3.79; -1.41)

ES: effect size; \*: p<0.05 for comparison young x older.



**Figure 1. Representative western blot of relative values comparison of mitophagy signaling proteins between young and older males.**

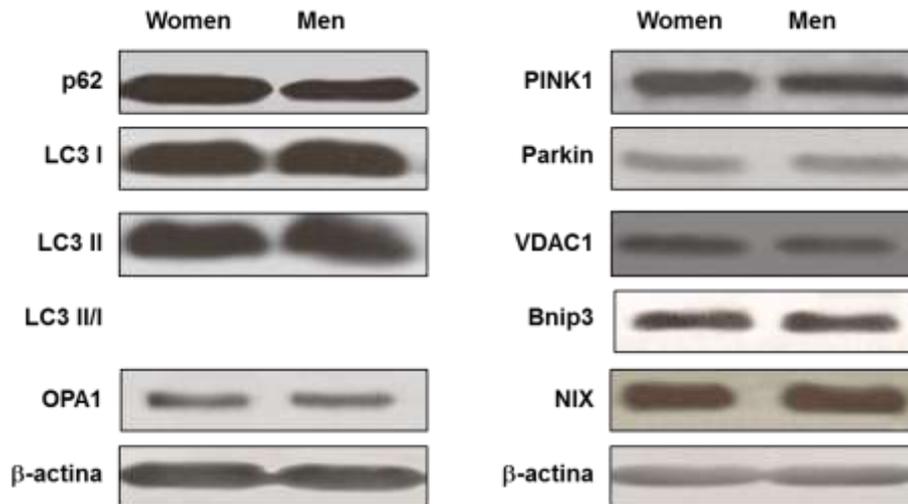
### Effect of sex on the mitophagy signaling proteins

In Table 10 it can be seen that no differences were found between the sexes in any of the proteins analyzed.

**Table 10. Comparison of relative values of mitophagy signaling proteins between sexes.**

	Women (n=8)		Men (n=8)		p-value	ES
	Mean	SD	Mean	SD		
p62 (%)	121.91	36.40	68.01	13.60	0.059	-1.48 (-2.59; -0.37)
LC3I (%)	153.71	30.88	142.83	40.26	0.674	-0.35 (-1.34; 0.64)
LC3II (%)	135.21	34.78	147.16	41.14	1.000	0.34 (-0.64; 1.33)
LC3II/I (%)	0.93	0.32	0.94	0.17	0.599	0.03 (-0.95; 1.01)
OPA1 (%)	80.57	13.29	76.92	20.36	0.401	-0.27 (-1.26; 0.71)
PINK1 (%)	80.83	12.76	73.03	10.45	1.000	-0.61 (-1.61; 0.39)
Parkin (%)	86.59	20.47	90.14	10.99	0.916	0.17 (-0.81; 1.16)
VDAC1 (%)	82.38	11.48	64.12	17.01	0.115	-1.59 (-2.71; -0.47)
Bnip3 (%)	86.92	23.28	77.67	32.87	0.172	-0.40 (-1.39; 0.59)
NIX (%)	48.78	16.16	52.23	18.92	0.529	0.21 (-0.77; 1.20)

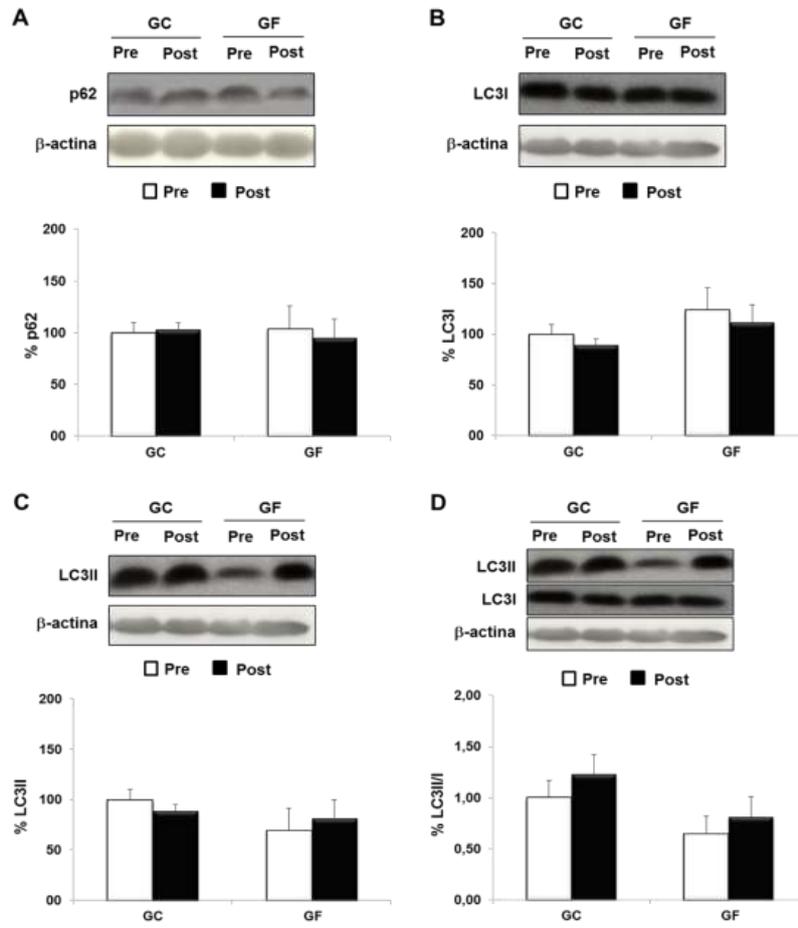
ES: effect size.



**Figure 2. Representative western blot of relative values of mitophagy signaling proteins between sexes.**

### **Effect of a strength training program on the mitophagy signaling proteins**

No changes were found for intragroup comparison in the proteins related to macroautophagy (Figure 3). Equally, no significant differences were observed for the intergroup comparison (Table 11).



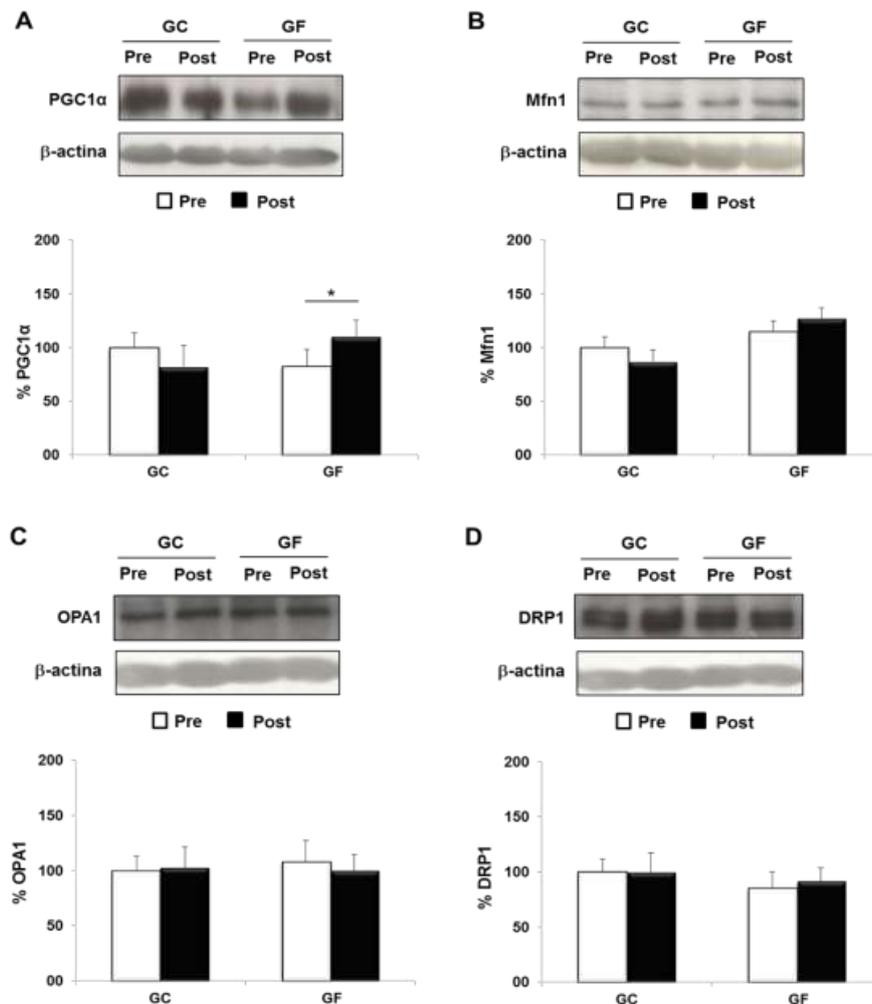
**Figure 3. Representative western blot for densitometric quantification and intragroup comparison of the pre- and post-training values of macroautophagy proteins p62 (A), LC3I (B), LC3II (C), and LC3II/I (D) in PBMC of elderly people.**

The values are presented as Mean  $\pm$  SEM. Control group (CG) and strength training group (STG).

**Table 11. Intergroup comparison of absolute differences ( $\Delta$ ) on macroautophagy proteins in PBMC of elderly people subjected to a strength training program.**

	CG		STG		p-value	ES
	Mean	SEM	Mean	SEM		
$\Delta$ _p62 (a.u.)	3.40	10.33	-8.55	16.88	0.372	-1.16 (-2.09; -0.22)
$\Delta$ _LC3I (a.u.)	-10.50	13.38	-12.39	22.56	0.715	-0.14 (-1.02; 0.74)
$\Delta$ _LC3II (a.u.)	-11.16	26.17	12.35	9.70	0.180	0.90 (-0.02; 1.81)
$\Delta$ _LC3II/I (a.u.)	0.22	0.19	0.16	0.18	0.855	-0.32 (-1.20; 0.57)

In proteins related to mitochondrial dynamics PGC1 $\alpha$ , Mfn1, OPA1, and DRP1, STG showed an increase in the expression of PGC1 $\alpha$  ( $p = 0.05$ ) (Figure 4). No differences were observed in these proteins for the intergroup comparison (Table 12).



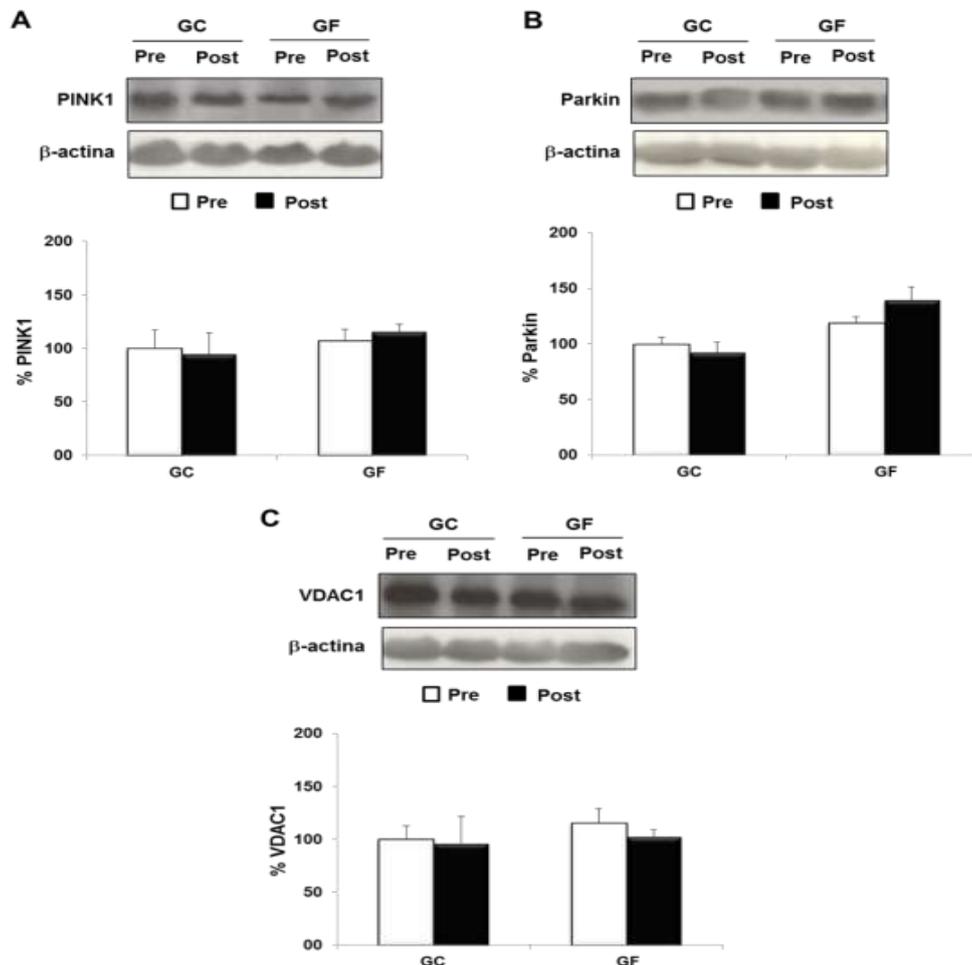
**Figure 4. Representative western blot for densitometric quantification and intragroup comparison of the pre- and post-training values of mitochondrial dynamics proteins PGC1 $\alpha$  (A), Mfn1 (B), OPA1 (C) and DRP1 (D) in PBMC of elderly people.**

The values are presented as Mean  $\pm$  SEM. Control group (CG) and strength training group (STG). \*:  $p \leq 0.05$  for comparison pre- x post-training.

**Table 12. Intergroup comparison of absolute differences ( $\Delta$ ) on mitochondrial dynamics proteins in PBMC of elderly people subjected to a strength training program.**

	CG		STG		p-value	ES
	Mean	SEM	Mean	SEM		
$\Delta$ _PGC1 $\alpha$ (a.u.)	-27.75	13.11	17.69	17.44	0.074	3.47 (2.16; 4.77)
$\Delta$ _Mfn1 (a.u.)	-11.82	12.36	12.95	9.54	0.160	2.00 (0.96; 3.05)
$\Delta$ _OPA1 (a.u.)	2.50	6.59	-8.16	6.61	0.175	-1.62 (-2.61; -0.63)
$\Delta$ _Drp1 (a.u.)	-6.22	5.88	0.52	10.37	0.382	1.15 (0.21; 2.08)

In the proteins related to the PINK/Parkin mitophagy pathway, no changes were found for the intragroup comparison (Figure 5). Equally, no differences were observed for the intergroup comparison (Table 13).



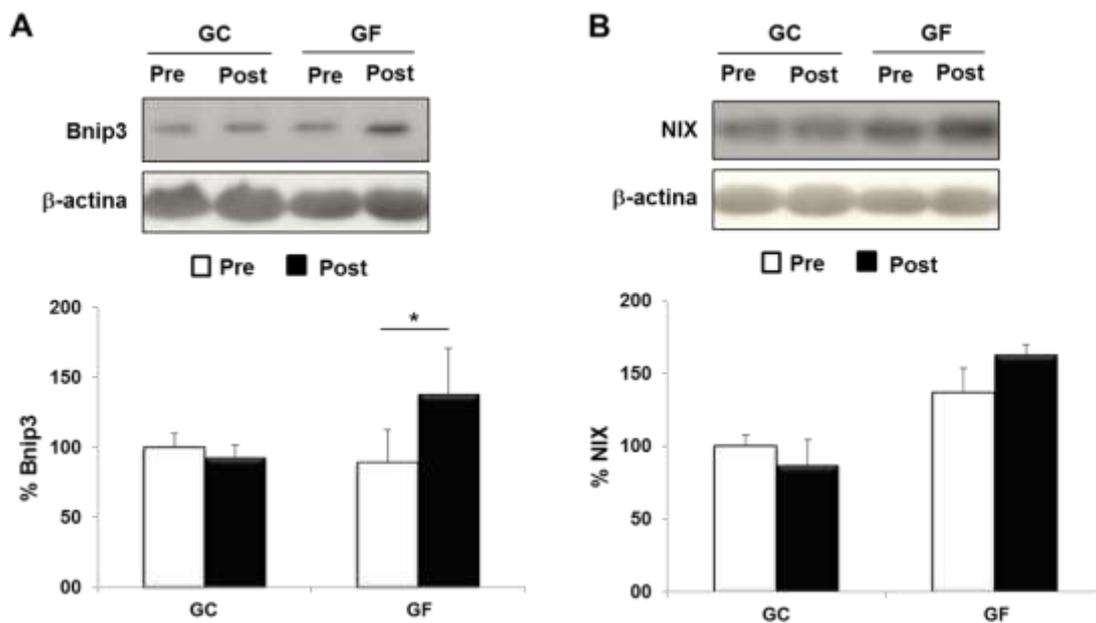
**Figure 4. Representative western blot for densitometric quantification and intragroup comparison of the pre- and post-training values of PINK/Parkin pathway mitophagy proteins, PINK1 (A), Parkin (B), and VDAC1 (C) in PBMC of elderly people.**

The values are presented as Mean  $\pm$  SEM. Control group (CG) and strength training group (STG).

**Table 13. Intergroup comparison of absolute differences ( $\Delta$ ) on PINK/Parkin pathway mitophagy proteins in PBMC of elderly people subjected to a strength training program.**

	CG		STG		p-value	ES
	Mean	SEM	Mean	SEM		
$\Delta$ _PINK1 (a.u.)	-5.74	7.42	8.75	15.33	0.568	1.95 (0.92; 2.99)
$\Delta$ _Parkin (a.u.)	-7.38	7.06	20.44	16.14	0.110	3.94 (2.52; 5.35)
$\Delta$ _VDAC1 (a.u.)	-3.84	19.90	-12.76	10.04	1.00	-0.45 (-1.35; 0.44)

In the proteins related to the NIX/Bnip3 mitophagy pathway, the STG presented an increase in Bnip3 expression ( $p = 0.04$ ) (Figure 6). For intergroup comparison, Bnip3 ( $p = 0.042$ ) and NIX ( $p = 0.048$ ) showed increased values in the STG, when compared with the CG (Table 14).



**Figure 6. Representative western blot for densitometric quantification and intragroup comparison of the pre- and post-training values of NIX/Bnip3 pathway mitophagy proteins, Bnip3 (A) and NIX (B) in PBMC of elderly people.**

The values are presented as Mean  $\pm$  SEM. Control group (CG) and strength training group (STG). \*:  $p \leq 0.05$  for comparison pre- x post-training.

**Table 14. Intergroup comparison of absolute differences ( $\Delta$ ) on NIX/Bnip3 pathway mitophagy proteins in PBMC of elderly people subjected to a strength training program.**

	CG		STG		p-value	ES
	Mean	SEM	Mean	SEM		
$\Delta$ _Bnip3 (a.u.)	-7.31	9.87	48.58	21.96	0.042	5.66 (3.86; 7.47)
$\Delta$ _NIX (a.u.)	-12.67	14.86	26.09	14.57	0.048	2.61 (1.47; 3.75)

\*:  $p \leq 0.05$  for intergroup comparison.

## DISCUSSION

### Maximum strength

Our results indicate that after 8 weeks of strength training with progressive loads the volunteers belonging to the STG experienced a significant increase in MDS and MIS in both upper and lower limbs. In addition, compared to the CG, the STG increased the MDS of MMSS and MMII and the MIS of MMSS.

In the same line, Mejías-Peña et al. (2017) studied the effects of traditional strength training on functional indicators and autophagy, inflammation, and apoptosis in older people. The authors used 3 sets of 8 to 12 repetitions at an intensity of 60 to 80% of 1RM for 8 weeks, twice a week. As results, they found an increase in MDS and MIS in the lower limbs of the elderly people evaluated. Likewise, Gennuso et al., (2013), evaluated elderly people who underwent 8 weeks of traditional strength training, twice a week, performing 1 series of 8 repetitions with intensity between 5 and 6 on the OMNI-RES scale. As a result, an increase in MDS was obtained in different muscle groups, including MMII. Also Frank et al. (2016), using 3 sets of 12 repetitions at 75–80% of the 1 RM of traditional strength training, 3 times a week, for 8 weeks, verified increases in the MDS of MMII in people over 70 years old.

Improvements in muscle strength, both MDS, and MIS, after strength training may be related to morphological adaptations (Moritani y DeVries, 1979) and/or neurological (Schoenfeld, Ogborn y Krieger, 2015) induced by training. The main morphological adaptation caused by strength training is the increase

in the cross-sectional area of the skeletal muscle fibers (Davies et al., 2016; Davies et al., 2017) and that can lead to greater strength production through the increase in the number of crossed bridges arranged in parallel, especially in type II fibers; the promotion of hyperplasia; the production of changes in fiber type and muscle architecture; the increase in the density of myofilaments; and the promotion of adaptations in connective tissue structures and muscle tendons (Folland y Willians, 2007).

On the other hand, the main neurological adaptation is the increase in muscle activation (Davies et al., 2016, Davies et al., 2017) and that can lead to greater force production by increasing the number of motor units recruited, the speed and firing frequency in the motor units; improve the activation pattern and recruitment synchronization of the motor units; increased excitability in motor neurons; blocking or reduction of inhibitory impulses, allowing more motor units to be activated simultaneously; decreased autogenic inhibition; and decreased co-activation of the agonist musculature (Gabriel, Kamen y Frost, 2006). In addition, it is possible that changes in the intrinsic characteristics of the motor neurons are responsible for the improvement of the activation of the motor units, during the first phases of strength training (Gabriel, Kamen y Frost, 2006).

In this sense, while morphological adaptations seem to respond to the increase in long-term strength, neural adaptations would be responsible for the rapid increase in strength in the first weeks of training (4 to 8 weeks) (Davies et al., 2016). Thus, it is likely that the muscle strength gains observed in the present study after 8 weeks of intervention are mainly attributable to neurological adaptations.

In older people this gain in muscle strength promoted by strength training is especially important, especially in MMII, since the strength losses in MMII during aging are strongly associated with decreases in physical capacity, mobility and, later, physical disability with direct impacts on the quality of life of the elderly (Brady, Straight, Evans, 2014, Schaap, Koster y Visser, 2013). Thus, it is possible to consider that a strength training with progressive loads, of short duration (8 weeks) is able to promote gains in muscle strength (MDS and MIS) and can be reflected in improvements in physical capacity and mobility, positively impacting the functional autonomy of these elderly people.

## Muscle power

Our results indicate that 8 weeks of strength training with progressive loads were able to promote increases in the mean power and peak power of MMII in the STG volunteers, in all the 1RM percentages evaluated. In addition, compared the two groups (CG vs. STG) significant increases were observed in favor of the STG in the mean power and peak power at 40% and 50% of the 1RM. However, the ES values indicate that also at loads of 60%, 70% and 80% of the 1RM the STG presented higher average power and greater peak power (60% and 80% of the 1RM).

Similar results are described by Valls et al. (2014) in people over 70 years of age subjected to 12 weeks of explosive strength training. The authors observed gains in the potency of MMII in the trained group, when compared to the CG. Likewise, Sayers and Gibson (2014) after 12 weeks of high-speed strength training, twice a week, in people over 65 years old, also saw gains in the peak power of MMII. In addition, Ramirez-Campillo et al. (2017) and Ramirez-Campillo et al. (2014), observed increases in the power of MMII in elderly people, after the execution of 12 weeks of high-speed strength training, when compared to their congener controls.

Muscle power is a product of strength and contraction speed (Reid y Fielding, 2012). Thus, increases in this variable can be explained by increases in muscle strength or increases in the speed of contraction. The increase in muscle power mediated by increases in strength would be related to quantitative changes in muscle mass and alterations in the properties of muscle fibers, in particular, in muscle fibers of type II, which have the capacity to generate four times more power than type I fibers, in addition to the factors already explained in the specific section on MDS and MIS. Already the increase of the power mediated by the increase in the speed of contraction would be related to the muscle contractile property, which can increase, independently of alterations in the size and composition of the muscle; and with neuromuscular activation, which leads to a decrease in the time needed to reach maximum strength and an increase in muscle energy generation (Reid y Fielding, 2012).

It is known that the speed of contraction seems to be more affected by the aging process, being the main responsible for the loss of power that accompanies the increase in age (Sayers, 2008). In addition, contraction velocity shows greater association with functional performance in people older than maximum strength (Sayers, 2008). In this sense, the increases in muscle power observed after carrying out a strength training program can also be associated with the improvement in the selectivity of motor unit recruitment or increase in the triggering frequency of action potentials and synchronization of motor units (Soriano et al., 2015; Soriano et al., 2017).

The increase of muscular power in the MMII of elderly people is an important result, because this variable seems to be the best predictor of functional capacity in elderly people, being strongly associated with the speed of walking, balance, and functionality in general, in addition to being the most important force manifestation for carrying out activities of daily life, such as climbing stairs, getting up from a chair or moving around the house (Brady, Straight, Evans, 2014).

### **Functional capacity**

Eight weeks of strength training with progressive loads, it was possible to observe increases in the functional capacity of elderly people of STG, measured by means of four tests (8FUG, 30CST, ACT, 2MST). In the CG, no differences were observed between the pre and post values.

The 8FUG test is considered a test that measures the mobility of older people, which is related to actions used in daily life and directly associated with functional capacity and risk of falls in older people (Mielenz et al., 2017).

The performance in this test was increased in the people of the STG after the 8 weeks of training. Likewise, Pinto et al., (2014) and Fragala et al. (2013) using 6 weeks of traditional strength training in older people, also observed increases in the performance of the 8FUG test. In the same line, two studies conducted by the same research group (Ramirez-Campillo et al., 2014, Ramirez-Campillo et al., 2015) using 12 weeks of high-speed strength training also showed significant improvements in the results of this test.

A possible explanation for the observed improvement in the performance of the 8FUG test in the elderly after carrying out the 8 weeks of strength training with progressive loads may be in the existing association between MMII muscle strength and functional capacity (Jung y Yamasaki, 2016), since both muscle strength (knee extensors and flexors) and the range of motion of MMII are predictors of functional disability in older adults. In addition, the muscle strength of knee flexors and extensors can explain 47% of performance in the 8FUG test (Jung y Yamasaki, 2016). In this sense, a strength training program seems to influence the performance of the 8FUG test and the functional capacity to promote neural and structural adaptations that help in the increase in the strength levels of the MMII.

The 30CST test is related to numerous tasks of daily life such as climbing stairs, getting up from a chair, being a test that can be an indicator of the strength and muscle power of the MMII in older people (Barbat-Artigas et al., 2012; Smith et al., 2010; Bennell, Dobson y Hinman, 2011).

In the present study, it was verified that 8 weeks of strength training with progressive loads were able to improve the outcome of elderly people who performed this test. Similarly, different studies using 6 weeks (Correa et al., 2012; Fragala et al., 2014; Pinto et al., 2014) or 12 weeks of traditional strength training (Lee y Park, 2013; Smoralek et al., 2014) also verified increases in the performance of the 30CST test. Additionally, 12 weeks of high-speed strength training (Ramirez-Campillo et al., 2017; Ramirez-Campillo et al., 2014) also produced similar results in this test.

The possible mechanisms involved in the performance increase in the 30CST test after the 8 weeks of training may be those already explained in the gains of strength and muscular power, instead, the concrete mechanisms by which the increases in muscle strength/power they would be reflected in improved functional capacity are still not well clarified (Beijersbergen et al., 2013).

The ACT test is related to the strength of upper limbs. It is characterized by being an easy test and practical use for population studies, being standardized in different countries such as Portugal and Spain (Pedrero-Chamizo, et al., 2012; Gouveia, et al., 2013).

The performance in this test was also increased in the STG people after the 8 weeks of training. Likewise, Mazini-Filho et al. (2017) also found improvements in the ACT test, in older women subjected to 12 weeks of strength training in circuit. The authors indicate that the strength of upper limbs evaluated by means of the ACT test increased after only 6 weeks of training, while no differences were observed in the CG. In the same way, Mingos et al. (2011) observed improvements in the performance of the ACT test after 24 weeks of strength training with progressive loads in adults at risk of developing diabetes. Additionally, Lemey et al. (2012) also verified increases in upper limb strength measured by ACT in patients with rheumatoid arthritis after 24 weeks of high intensity strength training. Another study that showed increases in the strength of upper limbs measured by the ACT test after 9 weeks of multi-component training (aerobic + strength + flexibility) in older people between 63 and 84 years old, was performed by Toraman (2005).

This increase in the strength of the upper limbs of older people can be explained by the same mechanisms that respond to the increase in strength in MMII, and are important because they can help improve the ability to perform tasks of daily life, such as load a bag with the purchase of the supermarket or transport an object from one site to another, or other activities that involve lifting or carrying things.

The 2MST test, which is related to aerobic endurance and strength (endurance) of MMII (Rikli y Jones, 1999; Rikli y Jones, 2013). It is known in elderly people, functional independence is related to the maintenance of sufficient aerobic capacity and muscle strength to perform daily activities (Fleg et al., 2005). Thus, promoting strategies that maintain or even improve these physical variables is a way to promote healthy aging.

In the present investigation, it was observed that 8 weeks of strength training with progressive loads are able to improve the performance of elderly people in the 2MST test. Similarly, Moreira et al. (2018) studied the impact of a model of hydrological classes on the functional capacity and flexibility of older women. The authors found that 12 weeks of hydro-gymnastics classes were able to improve the performance of the experimental group participants in the 2MST test. Additionally, 14 weeks of intervention with Tai Chi were able to increase the performance of people over 60 years in the 2MST test

(Taboonpong et al., 2008) and 15 weeks of multi-component training (aerobic + strength) were able to improve the performance of healthy women between 49 and 65 years of age in this test (Bartolomeu et al., 2017).

The improvement observed after 8 weeks of strength training with progressive loads in this test, may indicate improvement in muscular resistance of the MMII of the elderly. Muscular endurance is important for the elderly, as it can reflect a person's physiological reserve to develop their daily activities without fatiguing at an early stage. In addition, the increase of muscular resistance can also help the elderly to maintain their functional independence and autonomously perform activities of daily living (Boneth Collantes et al., 2012).

Therefore, it is possible to consider that after 8 weeks of intervention it was possible to increase the functional capacity of the elderly in a general way, with improvements in the performance of tests that evaluate the muscular strength (dynamic strength, resistance, and power) of MMII, the strength of upper limbs and mobility. These verified improvements in functional capacity are important for older people because it can contribute to reducing the risk of falls, with consequent reduction in the risk of fractures, reduction of the risk of developing muscle weakness and physical disability (McKinnon et al., 2017; Brady, Straight, Evans, 2014; Schaap, Koster y Visser, 2013). Thus, it is possible to consider that a short-term intervention, with conventional strength training, is efficient to promote gains in functional capacity, generally, in elderly people.

### **Body composition**

The total body FM showed reduction in STG participants, after the performance of the strength training program. In addition, reduction of the FM of the arms and of the ginoid FM was also observed. Zhao et al. (2017), using 12 weeks of traditional strength training also observed decrease in FM of older people in China. Likewise, Delshad et al. (2013) observed a decrease in FM in postmenopausal older women, after 12 weeks of strength training with elastic bands. However, other studies that used 6 weeks (Silva Correa et al., 2013;

Scalon et al., 2014; Emerson et al., 2015) or 12 weeks (Gerage et al., 2013) of traditional strength training did not find changes in the FM of people older than 65 years. In addition, 12 weeks of strength training with elastic bands were able to promote the decrease of FM in older people in South Korea (Kim et al., 2015).

The discrepancy between the results of the different studies may be due to the different methods used both for training and for the evaluation of body composition. However, the reduction of FM found in our study and observed by others (Zhao et al., 2017; Delshad et al., 2013), can perhaps be explained by the increase in energy expenditure generated during the practice of strength training, in addition to the increase of the capacity of muscle fiber recruitment, improvement of the capacity of generation of force and mobilization of fats, which is induced by training (Oliveira et al., 2013) and can increase the daily and auxiliary energy expenditure in the loss of FM.

The LM did not change after 8 weeks of strength training with progressive loads. This result is in agreement with the studies of Gerage et al. (2013), Scalon et al. (2014), Fragala et al. (2014), Zech et al. (2012), Emerson et al. (2015), Walker y Häkkinen (2014) and Silva Correa et al. (2013), who also did not verify changes in the LM after performing different periods (6 to 12 weeks) of traditional strength training. There were also no changes in the LM after 8 (Martins et al., 2015) or 12 weeks (Kim et al., 2015) of strength training with elastic bands.

The absence of alterations in the SCI observed in the present study may be related to the short training period used, whereas, in a meta-analysis study conducted by Peterson, Sen y Gordon (2011), it was found that the average time for a gain of 1.1 kg of LM in people over 50 years is 20.5 weeks of training. More recently, Borde, Hortobágyi y Granacher (2015), in another meta-analysis study indicated that to produce changes in the muscular morphology of older people, training should last between 50 and 53 weeks, 3 times a week, with 2-3 sets of 7-9 repetitions per exercise, at an intensity of 51-69% of the 1RM. Thus, it is possible to consider that, programs that aim at increases in the LM, through the use of strength training with progressive or traditional loads, must have a duration longer than that used in the present study, preferably, approaching the

duration indicated by Peterson, Sen y Gordon (2011) or by Borde, Hortobágyi y Granacher (2015).

Therefore, after 8 weeks of intervention, it was possible to verify changes in body composition, specifically in the reduction of FM, but without observable changes in BF and bone health, which suggests that the use of training with longer duration than the one used here could produce benefits for bone health, LM and perhaps promote greater decreases in FM. The promotion of improvements in body composition and bone health are important for older people because they would be related to healthy aging, contributing directly and/or indirectly in reducing the risk of developing the frailty syndrome, the risk of falls, of metabolic dysfunctions, in addition to improving physical capacity, balance, mobility, muscle strength/power, and functional capacity (ACSM, 2011, ACSM, 2009, Brady, Straight, Evans, 2014).

### **Effect of aging on mitophagy signaling proteins**

The autophagic flow seems to be diminished in older people (Mejías-Peñas et al., 2016). In fact, our results indicate that some proteins related to mitophagy/autophagy present significant differences in older people (p62, VDAC1, NIX, LC3 I, and LC3 II), when compared to young subjects. In addition, other proteins (OPA1, PINK1, Parkin, and Bnip3) show a tendency to decrease in older people.

In our results, there was a tendency to decrease the amount of OPA1 in the PBMC of older men, when compared to young men. Discrepancy, some studies indicate an increase in the expression of OPA1 (Capitanio et al., 2016a; Leduc-Gaudet et al., 2015; Stauch, Purnell y Fox, 2014; O'Leary et al., 2013) in the brain and muscle of elderly rodents. On the other hand, some studies (Niemann et al., 2017; Distefano et al., 2017; Joseph et al., 2013) point out an absence of changes or even decrease (Tezze et al., 2017; Joseph et al., 2012) in this protein.

Contrary to what one might think, an increase in the expression of OPA1 does not stimulate mitochondrial biogenesis or an increase in autophagy (Varanita et al., 2015). This increased expression of OPA1 can aid in the

maintenance of mitochondrial function, inducing an increase in respiratory capacity, which is related to the rigidity of the ridges (Cogliati et al., 2013), being a strategy to try to counteract muscular atrophy observed during aging. On the other hand, a decrease in the expression of this protein can promote a destabilization of the mitochondrial crests, promoting a mitochondrial dysfunction, with consequent increase in the excessive production of ROS and targeting of these organelles toward elimination by mitophagy or apoptosis (Trezze et al., 2017).

PINK1 and Parkin are two other proteins that showed a tendency to decrease in older people. Similarly, other studies also indicate a decrease (Niemann et al., 2017) or absence of alterations (Capitanio et al., 2016a; Ogborn et al., 2015) in PINK1 levels in studies with animal or human models. On the other hand, Parkin appears to be increased in the muscle of old rats (O'Lary et al., 2013).

Under physiological conditions, PINK1 would migrate from OMM to IMM and would be degraded by mitochondrial proteases (Bingol y Sheng, 2016). However, in damaged / dysfunctional mitochondria, PINK1 accumulates in OMM and promotes the activation of the mitochondrial pathway PINK1/Parkin by Parkin phosphorylation and recruitment to OMM (McWilliams y Muqit, 2017). Then, any cascade of reactions of this pathway will lead the damaged/dysfunctional mitochondria to degradation by mitophagy. In this sense, an increase in these two proteins may indicate a greater activation of mitophagy via the PINK1/Parkin pathway.

However, in the older people evaluated there was a tendency to decrease the levels of these two proteins, which may indicate a failure in the activation of mitophagy, with consequent accumulation of damaged/dysfunctional mitochondria that are associated with the development of some diseases (Mouton-Liger et al., 2017).

VDAC1 is the protein responsible for controlling the permeability and conductance of WMO, as well as modulating the opening and closing of MPTP (Ding y Yin, 2012). This protein appears to be decreased in the brain (Krestinina et al., 2015) and in the muscle of elderly rats (Capitanio et al., 2016a). However, other studies did not find differences in the expression of this protein in the

muscle of older people (Ogborn et al., 2015; Gram et al., 2014), when compared to young people.

Our results indicate a significant reduction in the expression of VDAC1 in PBMC of elderly people. This reduction in the content of VDAC1 with aging possibly indicates that old age can induce changes in mitochondrial susceptibility to  $\text{Ca}^{2+}$  overload and in the opening of MPTP (Krestinina et al., 2015). The reduced availability of VDAC1 in OMM may also indicate a failure in the PINK1/Parkin mitophagy pathway, since it should be ubiquitinated by Parkin, to allow its binding with p62 and the union between the lysosome and the damaged/dysfunctional mitochondria (Ogborn et al., 2015). Additionally, VDAC1 could also be involved in apoptosis by MPTP closure and/or by regulation of  $\text{Ca}^{2+}$  homeostasis, inducing the elimination of damaged/dysfunctional mitochondria by apoptosis, to the detriment of mitophagy (Gram et al., 2014).

Another route that activates mitophagy is the NIX/Bnip3 pathway. These two proteins regulate two basic cellular functions, cell death and autophagy/mitophagy (Ney, 2015). In our older volunteers, NIX showed a significant reduction and Bnip3 a tendency to decrease, when compared to young people. These data are in agreement with some authors who affirm that mitophagy is diminished in older people (Palikaras, Lionaki y Tavernarakis, 2015, Sgarbi et al., 2014). In addition, other authors suggest that Bnip3 does not undergo alteration (Distefano et al., 2017; Ogborn et al., 2015) or may even decrease (Capitanio et al., 2016b) in different tissues of humans and elderly animals.

This decrease in NIX and Bnip3 may indicate a reduction in mitophagic flow and accumulation of damaged/dysfunctional mitochondria, since NIX-deficient animals had erythrocytes with excess of abnormal mitochondria (Schweers et al., 2007), as well as reticulocytes from deficient mice in NIX they exhibited a weakness in the clearance system of damaged/defective mitochondria (Sandoval et al., 2008).

The LC3 I and II proteins participate in mitophagy mediating the formation of the autophagosome and its binding to the mitochondria that needs to be eliminated (Schwalm, Deldicque y Francaux, 2017; Gomes y Scorrano, 2013; Hamacher-Brady, Brady, 2016). Some studies show that the LC3II/I ratio

in PBMC (Mejías-Peña et al., 2016) and in skeletal muscle (Tanner et al., 2015) of older people is lower, compared to a group of young people. This decrease in LC3 II and I related to aging may indicate a failure in the cascade of reactions that leads to mitophagy, since, lesser availability of these proteins could mean reduction of autophagosome ligations with damaged/dysfunctional mitochondria, with consequent accumulation of these organelles.

Therefore, although there seems to be no consensus in the scientific literature, our results indicate that aging seems to be associated with the decrease of the body's mitophagic capacity.

### **Effect of sex on the mitophagy signaling proteins**

In mitochondrial function differences are observed between men and women. Demarest et al. (2016), in a study with male and female Sprague-Dawley mice, verified that male animals had higher LC3 II content in their brain tissue than females. In addition, the LC3II/I ratio was also higher in the brains of males. However, after inducing brain damage in these animals, the females showed increased levels of mitophagy, resulting in greater protection against brain damage. With these results, the authors concluded that the brain of female mice possessed an innate ability to regulate mitophagy, which was able to protect the contralateral hemisphere from neuronal cell death.

However, our results indicate that differences in mitophagic proteins between men and women were not observed in the PBMC of older people. One possible explanation for this discrepancy may be in the fact of treating postmenopausal women where the sex-related differences would be attenuated, due to the decrease in the influence of female sex hormones on various physiological functions (Austad y Bartke, 2016).

Evidence suggests that estrogen, estradiol, and progesterone act as activators of the cells of the immune system (Pennell, Galligan y Fish, 2012). However, it is known that with advancing age, sex hormone concentrations decrease rapidly in women and more gradually for men, promoting a progressive functional decrease in the immune system of both sexes (Klein y

Flanagan, 2016). In addition, menopause is also associated with a decrease in some subsets of lymphocytes (Klein y Flanagan, 2016). These alterations of aging could be responsible for the lack of differences in mitophagy proteins between men and women, observed in this study.

### **Effect of a strength training program on the mitophagy signaling proteins**

#### Macroautophagy proteins

Our results indicated that there were no significant differences for the comparison between pre-training and post-training values in LC3I, LC3II, and p62. In the intergroup comparison, a tendency of decrease of p62 in the STG was observed, with a large effect size.

Similarly, other authors also found no significant differences induced by the regular practice of physical activity in humans (Drummond et al., 2014) or by a specific exercise program in mice (Gusdon et al., 2017) or in humans (Mejias-Peña et al., 2017) in LC3I, LC3II or the LC3II/I ratio. On the other hand, other studies show that physical exercise can induce changes in these proteins, such as an increase in LC3II (Wohlgemuth et al., 2011; Ogborn et al., 2015), an increase in the LC3II / I ratio (Tanner et al. 2015; Mejias-Peña et al., 2016) and decrease of p62 (Mejias-Peña et al., 2016).

A possible explanation for the discordance of our results with those presented by some studies (Wohlgemuth et al., 2011; Ogborn et al., 2015; Tanner et al., 2015; Mejias-Peña et al., 2016) may be due to two main factors: the level of physical conditioning of the participants of this study and the duration of the intervention.

The level of physical conditioning of the participants will influence the results. The more trained the subject is, the more difficult it will be to produce changes in response to an exercise program (Selye, 1946). The volunteers who participated in this study were physically active and already participated in physical training programs (other than strength training); perhaps, because of this they did not present the results observed in other studies, which were developed with people or animals that in the beginning of the investigation were not trained.

The duration of the intervention, which was 8 weeks, may also have been a factor responsible for the difference in results between the studies, whereas, older people may take longer to get adaptations to exercise than young people (ACSM, 2009). Thus, it is possible that, for the promotion of significant changes in macroautophagy proteins in physically active elderly people, the intervention time should have been longer.

#### Mitochondrial dynamics proteins

After 8 weeks of training, a significant increase in the levels of PGC1 $\alpha$  in the PBMC of the elderly people of the STG was observed in the present work. In addition, the intergroup comparison did not present a significant difference, but demonstrated a large effect size.

Similarly, the regular practice of aerobic training induced an increase in PGC1 $\alpha$  expression in muscle tissue of humans and rodents (Konopka et al., 2014; Broskey et al., 2014; Kang et al., 2013; Koltai et al., 2012; Palacios et al., 2009). In addition, a single exercise session was able to produce increases in the mRNA expression of this protein in humans and in rats (Ogborn et al., 2015; Ljubicic et al., 2009; Cobley et al., 2012; Iversen et al., 2011).

This increase in PGC1 $\alpha$  levels in response to exercise is important because this protein is related to better mitochondrial performance, increased oxygen consumption and synthesis of ATP, reduced ROS production and increased mitophagic capacity (Broskey et al., 2014).

No significant differences were found in the intragroup comparison in OPA1, Mnf1, and DRP1. Neither, differences were observed for the intergroup comparison, despite having been found a large effect size, for the three proteins. Like our results, Joseph et al. (2012) found no differences induced by physical activity in OPA1 and DRP1 in older people. In addition, Fealy et al. (2014) did not observe changes in Mnf1 in elderly people after 12 weeks of aerobic training. In studies with animal model, Gioscia-Ryan et al. (2016) did not observe changes in Mnf1 after 10 weeks of voluntary aerobic exercise in mice, nor did Picard et al. (2013), obtained significant differences in OPA1 in the muscle of mice subjected to a session of voluntary aerobic exercise.

However, there is evidence to show changes induced by exercise in these proteins (Fealy et al., 2014; Konopka et al., 2013; Bori et al., 2012; Koltai et al., 2012; Drummond et al., 2014; Gusdon et al., 2017). Despite the mechanisms by which exercise might promote changes in these proteins not being established, it seems that these mechanisms are related to maintaining higher levels of mitochondrial fusion and fission processes during exercise (Ju et al., 2016).

#### PINK/Parkin pathway mitophagy proteins

The mitophagy proteins of the PINK/Parkin pathway analyzed were PINK1, Parkin, and VDAC1. None of them presents changes induced by the exercise of the pre moment for the subsequent training. In addition, for intergroup comparison, none of them presents significant difference. However, the values of PINK1 and Parkin present a large effect size.

Gram et al. (2014) found no differences induced by exercise in VDAC1 of muscle tissue of people older than 20 years of aerobic training in a cycle ergometer. In this same line, Fealy et al. (2014) did not observe alterations in PINK1 and Parkin in muscle cells of elderly people after 12 weeks of aerobic training, five times per week. Similarly, Ogborn et al. (2015) found that a single strength training session with 4 sets of 10 repetitions at 75% of 1RM did not allow changes in VDAC1, PINK1, and Parkin in the muscle of older people. In turn, Drummond et al. (2014) that analyzed the major muscle tissue samples with levels of physical activity found that the levels of PINK1 were not altered, when compared with their sedentary congeners.

The decreased bioavailability of these mitophagy proteins from the PINK/Parkin pathway may indicate an increase in mitochondrial dysfunction during aging (Drummond et al., 2014). In the opposite direction, its increase induced by the regular practice of physical exercises, could promote the control of mitochondrial quality through the activation of the mitophagic machinery (Scarffe et al., 2014). However, there is still no agreement in the literature about the functioning of these proteins in response to the exercise. However, a greater body of evidence is needed to establish with greater precision that physical training can induce alterations in the expression of these proteins.

### NIX/Bnip3 pathway mitophagy proteins

The mitophagy proteins of the NIX/Bnip3 pathway analyzed were NIX and Bnip3. NIX did not present differences in the intragroup comparison, but Bnip3 increased in the STG in response to 8 weeks of strength training with progressive loads. In addition, in the intergroup comparison, the two proteins presented significantly higher values in the STG, with a large effect size.

In relation to NIX, Jamar et al. (2012) indicates that the exercise was responsible for promoting an increase in mRNA expression for this protein in muscle tissue sample of adult athletes after performing a session of aerobic exercise of very long duration. On the other hand, after conducting a strength training session, Ogborn et al. (2015) did not observe alterations in mRNA expression for NIX in the muscle of elderly people.

In the same line of NIX, studies that analyzed the behavior of Bnip3 against physical training, present different results. Wohlgemuth et al. (2011) did not observe alterations in mRNA expression for this protein in the muscle tissue of elderly people after 24 weeks of training combining aerobic and strength exercises. Similarly, Ogborn et al. (2015) did not observe changes in mRNA expression for Bnip3 in the muscle of elderly people after performing a strength training session. On the other hand, Drummond et al. (2014) in a study that compared physically active older people with their sedentary congeners, found higher mRNA values for Bnip3 in people who had higher levels of physical activity. This result contrasts with the study by Zampieri et al. (2015) who found lower amounts of Bnip3 in muscle tissue samples from physically active older people, compared with sedentary elderly people.

Our findings in relation to NIX and Bnip3 indicate an increase of them in response to the training program, which can be understood as a positive result, since these proteins are directly involved in the regulation of autophagy, since the increase of its expressions induced by exercise may indicate a greater formation of autophagosomes and consequently, a greater mitophagic flow.

Thus, in general, it seems that strength training with progressive loads can stimulate mitochondrial biogenesis and mitophagy mediated by the NIX/Bnip3 pathway. As a suggestion, we believe that future studies should investigate the effects of strength training on proteins related to mitochondrial biogenesis and the two main pathways of mitophagy, using different protocols of physical exercise, with different volumes and intensities, as well as intervention times longer, with the aim of determining more specifically how exercise can prevent mitochondrial damage and its possible effects on dysfunctional mitochondria.

## CONCLUSIONS

In view of the results obtained in the present research work and based on the objectives set out at the beginning, it is possible to conclude that:

- 1:** A program of training of forces with progressive loads of 8 weeks of duration in people older produces an increase of the maximum dynamic force, of the isometric strength and of the muscular power in different loads.
- 2:** This same training program can improve functional capacity, increasing mobility, walking speed with changes in direction, resistance strength of the lower limbs and aerobic resistance in elderly people.
- 3:** Eight weeks of strength training with progressive loads are not enough to promote changes in bone health and produce only discrete changes in fat mass and lean mass.
- 4:** The aging process seems to negatively affect the autophagic and mitophagic capacity of the organism, especially in the mitophagy proteins related to the NIX/Bnip3 pathway.
- 5:** In people older than 70 years old, the levels of signaling proteins of mitophagy seem to behave similarly, regardless of the sex of the subject.
- 6:** A program of strength training with progressive loads of 8 weeks in people over 70 years old produces positive changes in the proteins of macroautophagy, mitochondrial biogenesis, and mitophagy, especially in those related to NIX/Bnip3 mitophagy pathway.

## **12. *Referencias***

---



## 12. REFERENCIAS

Adams DJ, Rowe DW, Ackert-Bicknell CL. Genetics of aging bone. *Mamm Genome*. 2016;27(7-8):367-80.

Aledo JC, Blanco JM. Aging is neither a failure nor an achievement of natural selection. *Curr Aging Sci*. 2015;8(1):4-10.

Allison SJ, Poole KE, Treece GM, Gee AH, Tonkin C, Rennie WJ, Folland JP, Summers GD, Brooke-Wavell K. The Influence of High-Impact Exercise on Cortical and Trabecular Bone Mineral Content and 3D Distribution Across the Proximal Femur in Older Men: A Randomized Controlled Unilateral Intervention. *J Bone Miner Res*. 2015;30(9):1709-16.

Alvim RO, Cheuhen MR, Machado SR, Sousa AG, Santos PC. General aspects of muscle glucose uptake. *An Acad Bras Cienc*. 2015;87(1):351-68.

American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(7):1334-59.

American College of Sports Medicine. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and physical activity for older adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(7):1510-30.a

American College of Sports Medicine. Progression Models in Resistance Training for Healthy Adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(3):687-708.b

Austad SN, Bartke A. Sex Differences in Longevity and in Responses to Anti-Aging Interventions: A Mini-Review. *Gerontology*. 2015;62(1):40-6.

---

Barbat-Artigas S, Rolland Y, Zamboni M, Aubertin-Leheudre M. How to assess functional status: a new muscle quality index. *J Nutr Health Aging*. 2012;16(1):67-77.

Barbieri E, Agostini D, Polidori E, Potenza L, Guescini M, Lucertini F, et al. The pleiotropic effect of physical exercise on mitochondrial dynamics in aging skeletal muscle. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:917085.

Barbieri M, Bonafè M, Franceschi C, Paolisso G. Insulin/IGF-I-signaling pathway: an evolutionarily conserved mechanism of longevity from yeast to humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285(5):E1064-71.

Barbosa BR, Almeida JM, Barbosa MR, Rossi-Barbosa LA. Evaluation of the functional capacity of the elderly and factors associated with disability. *Cien Saude Colet*. 2014;19(8):3317-25.

Bartolomeu R, Barros V, Peixoto C, Monteiro AM. The effects of a multicomponent training on body composition and functional fitness in breast cancer women patients. *Motricidade*. 2017;13(1):159-60.

Beaudart C, Dawson A, Shaw SC, Harvey NC, Kanis JA, Binkley N, Reginster JY, Chapurlat R, Chan DC, Bruyère O, Rizzoli R, Cooper C, Dennison EM; IOF-ESCEO Sarcopenia Working Group. Nutrition and physical activity in the prevention and treatment of sarcopenia: systematic review. *Osteoporos Int*. 2017. [Epub ahead of print].

Beijersbergen CM, Granacher U, Vandervoort AA, DeVita P, Hortobágyi T. The biomechanical mechanism of how strength and power training improves walking speed in old adults remains unknown. *Ageing Res Rev*. 2013;12(2):618-27.

Bellar D, Marcus L, Judge LW. Validation and Reliability of a Novel Test of Upper Body Isometric Strength. *J Hum Kinet*. 2015;47:189-95.

Bennell K, Dobson F, Hinman R. Measures of physical performance assessments: Self-Paced Walk Test (SPWT), Stair Climb Test (SCT), Six-Minute Walk Test (6MWT), Chair Stand Test (CST), Timed Up & Go (TUG),

Sock Test, Lift and Carry Test (LCT), and Car Task. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63 Suppl 11:S350-70.

Bingol B, Sheng M. Mechanisms of mitophagy: PINK1, Parkin, USP30 and beyond. *Free Radic Biol Med*. 2016;100:210-22.

Boneth Collantes M, Ariza García CL, Angarita Fonseca A, Parra Patiño J, Monsalve A, Gómez E. Reliability of Arm Curl and Chair Stand tests for assessing muscular endurance in older people. *Rev Cienc Salud*. 2012;10(2):179-93.

Borde R, Hortobágyi T, Granacher U. Dose-Response Relationships of Resistance Training in Healthy Old Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 2015;45(12):1693-720.

Bori Z, Zhao Z, Koltai E, Fatouros IG, Jamurtas AZ, Douroudos II, Terzis G, Chatzinikolaou A, Sovatzidis A, Draganidis D, Boldogh I, Radak Z. The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle. *Exp Gerontol*. 2012;47(6):417-24.

Bossy-Wetzel E, Barsoum MJ, Godzik A, Schwarzenbacher R, Lipton SA. Mitochondrial fission in apoptosis, neurodegeneration and aging. *Curr Opin Cell Biol*. 2003;15(6):706-16.

Bradford MM. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248-54.

Brady AO, Straight CR, Evans EM. Body composition, muscle capacity and physical function in older adults: an integrated conceptual model. *J Aging Phys Act*. 2014;22(3):441-52.

Brook MS, Wilkinson DJ, Phillips BE, Perez-Schindler J, Philp A, Smith K, Atherton PJ. Skeletal muscle homeostasis and plasticity in youth and ageing: impact of nutrition and exercise. *Acta Physiol (Oxf)*. 2016;216(1):15-41.

---

Broskey NT, Greggio C, Boss A, Boutant M, Dwyer A, Schlueter L, et al. Skeletal muscle mitochondria in the elderly: effects of physical fitness and exercise training. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(5):1852-61.

Buch A, Carmeli E, Boker LK, Marcus Y, Shefer G, Kis O, Berner Y, Stern N. Muscle function and fat content in relation to sarcopenia, obesity and frailty of old age--An overview. *Exp Gerontol.* 2016;76:25-32.

Capitanio D, Leone R, Fania C, Torretta E, Gelf C. Sprague Dawley rats: A model of successful heart aging. *EuPA Open Proteomics.* 2016;12:22-30.b

Capitanio D, Vasso M, De Palma S, Fania C, Torretta E, Cammarata FP, Magnaghi V, Procacci P, Gelfi C. Specific protein changes contribute to the differential muscle mass loss during ageing. *Proteomics.* 2016;16(4):645-56.a

Cartee GD, Hepple RT, Bamman MM, Zierath JR. Exercise Promotes Healthy Aging of Skeletal Muscle. *Cell Metab.* 2016;23(6):1034-47.

Carter HN, Chen CC, Hood DA. Mitochondria, muscle health, and exercise with advancing age. *Physiology (Bethesda).* 2015;30(3):208-23.

Chabi B, Ljubcic V, Menzies KJ, Huang JH, Saleem A, Hood DA. Mitochondrial function and apoptotic susceptibility in aging skeletal muscle. *Aging Cell.* 2008;7(1):2-12.

Chisholm DM, Collis ML, Kulak LL, Davenport W, Gruber N. Physical activity readiness. *Br Col Med J* 1975;17:375-78.

Cobley JN, Bartlett JD, Kayani A, Murray SW, Louhelainen J, Donovan T, Waldron S, Gregson W, Burniston JG, Morton JP, Close GL. PGC-1 $\alpha$  transcriptional response and mitochondrial adaptation to acute exercise is maintained in skeletal muscle of sedentary elderly males. *Biogerontology.* 2012;13(6):621-31.

Cogliati S, Frezza C, Soriano ME, Varanita T, Quintana-Cabrera R, Corrado M, Cipolat S, Costa V, Casarin A, Gomes LC, Perales-Clemente E, Salviati L, Fernandez-Silva P, Enriquez JA, Scorrano L. Mitochondrial cristae shape

determines respiratory chain supercomplexes assembly and respiratory efficiency. *Cell*. 2013;155(1):160-71.

Conley KE, Jubrias SA, Esselman PC. Oxidative capacity and ageing in human muscle. *J Physiol*. 2000;526 Pt 1:203-10.

Correa CS, LaRoche DP, Cadore EL, Reischak-Oliveira A, Bottaro M, Kruegel LF, Tartaruga MP, Radaelli R, Wilhelm EN, Lacerda FC, Gaya AR, Pinto RS. 3 Different types of strength training in older women. *Int J Sports Med*. 2012;33(12):962-9.

Cruz-Jentoft AJ, Landi F, Schneider SM, Zúñiga C, Arai H, Boirie Y, Chen LK, Fielding RA, Martin FC, Michel JP, Sieber C, Stout JR, Studenski SA, Vellas B, Woo J, Zamboni M, Cederholm T. Prevalence of and interventions for sarcopenia in ageing adults: a systematic review. Report of the International Sarcopenia Initiative (EWGSOP and IWGS). *Age Ageing*. 2014;43(6):748-59.

Cuevas MJ, Almar M, García-Glez JC, García-López D, De Paz JA, Alvear-Ordenes I, González-Gallego J. Changes in oxidative stress markers and NF-kappaB activation induced by sprint exercise. *Free Radic Res*. 2005;39(4):431-9.

Curtis E, Litwic A, Cooper C, Dennison E. Determinants of Muscle and Bone Aging. *J Cell Physiol*. 2015;230(11):2618-25.

da Costa JP, Vitorino R, Silva GM, Vogel C, Duarte AC, Rocha-Santos T. A synopsis on aging-Theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Res Rev*. 2016;29:90-112.

Davies T, Orr R, Halaki M, Hackett D. Effect of training leading to repetition failure on muscular strength: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med*. 2016;46(4):487-502.

Davies TB, Kuang K, Orr R, Halaki M, Hackett D. Effect of Movement Velocity During Resistance Training on Dynamic Muscular Strength: A Systematic

---

Review and Meta-Analysis. *Sports Med.* 2017. doi: 10.1007/s40279-017-0676-4. [Epub ahead of print]

de Labra C, Guimaraes-Pinheiro C, Maseda A, Lorenzo T, Millán-Calenti JC. Effects of physical exercise interventions in frail older adults: a systematic review of randomized controlled trials. *BMC Geriatr.* 2015;15:154.

Delshad M, Ghanbarian A, Mehrabi Y Sarvghadi F, Ebrahim K. Effect of Strength Training and Short-term Detraining on Muscle Mass in Women Aged Over 50 Years Old. *Int J Prev Med.* 2013;4(12):1386-94.

Demarest TG, Waite EL, Kristian T, Puche AC, Waddell J, McKenna MC, Fiskum G. Sex-dependent mitophagy and neuronal death following rat neonatal hypoxia-ischemia. *Neuroscience.* 2016;335:103-13.

Derbré F, Gomez-Cabrera MC, Nascimento AL, Sanchis-Gomar F, Martinez-Bello VE, Tresguerres JA, Fuentes T, Gratas-Delamarche A, Monsalve M, Viña J. Age associated low mitochondrial biogenesis may be explained by lack of response of PGC-1 $\alpha$  to exercise training. *Age (Dordr).* 2012;34(3):669-79.

Di Meo S, Reed TT, Venditti P, Victor VM. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:1245049.

Dinardo MM, Musicco C, Fracasso F, Milella F, Gadaleta MN, Gadaleta G, Cantatore P. Acetylation and level of mitochondrial transcription factor A in several organs of young and old rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;301(1):187-91.

Ding WX, Yin XM. Mitophagy: mechanisms, pathophysiological roles, and analysis. *Biol Chem.* 2012;393(7):547-64.

Distefano G, Standley RA, Dubé JJ, Carnero EA, Ritov VB, Stefanovic-Racic M, Toledo FG, Piva SR, Goodpaster BH, Coen PM. Chronological Age Does not Influence Ex-vivo Mitochondrial Respiration and Quality Control in Skeletal Muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2017;72(4):535-542.

Drummond MJ, Addison O, Bruncker L, Hopkins PN, McClain DA, LaStayo PC, Marcus RL. Downregulation of E3 ubiquitin ligases and mitophagy-related genes in skeletal muscle of physically inactive, frail older women: a cross-sectional comparison. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69(8):1040-8.

Durcan TM, Tang MY, Pérusse JR, Dashti EA, Aguilera MA, McLelland GL, Gros P, Shaler TA, Faubert D, Coulombe B, Fon EA. USP8 regulates mitophagy by removing K6-linked ubiquitin conjugates from parkin. *EMBO J*. 2014;33(21):2473-91.

Eastell R, O'Neill TW, Hofbauer LC, Langdahl B, Reid IR, Gold DT, Cummings SR. Postmenopausal osteoporosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16069.

Edholm P, Strandberg E, Kadi F. Lower limb explosive strength capacity in elderly women: effects of resistance training and healthy diet. *J Appl Physiol* (1985). 2017:jap.00924.2016. [Epub ahead of print]

Edwards MH, Dennison EM, Aihie Sayer A, Fielding R, Cooper C. Osteoporosis and sarcopenia in older age. *Bone*. 2015;80:126-30.

Eiyama A, Okamoto K. PINK1/Parkin-mediated mitophagy in mammalian cells. *Curr Opin Cell Biol*. 2015;33:95-101.

Emerson NS, Stout JR, Fukuda DH, Robinson EH, Scanlon TC, Beyer KS, Fragala MS, Hoffman JR. Resistance training improves capacity to delay neuromuscular fatigue in older adults. *Arch Gerontol Geriatr*. 2015;61(1):27-32.

Englund DA, Sharp RL, Selsby JT, Ganesan SS, Franke WD. Resistance training performed at distinct angular velocities elicits velocity-specific alterations in muscle strength and mobility status in older adults. *Exp Gerontol*. 2017;91:51-56.

Esquenazi D, da Silva SRB, Guimarães MAM. Pathophysiological aspects of human aging and falls in the elderly. *Revista HUPE*. 2014;13(2):11-20.

Fabbri E, Chiles Shaffer N, Gonzalez-Freire M, Shardell MD, Zoli M, Studenski SA, Ferrucci L. Early body composition, but not body mass, is associated with

future accelerated decline in muscle quality. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2017. doi: 10.1002/jcsm.12183. [Epub ahead of print]

Farr JN, Khosla S. Determinants of bone strength and quality in diabetes mellitus in humans. *Bone*. 2016;82:28-34.

Fealy CE, Mulya A, Lai N, Kirwan JP. Exercise training decreases activation of the mitochondrial fission protein dynamin-related protein-1 in insulin-resistant human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)*. 2014;117(3):239-45.

Fleg JL, Morrell CH, Bos AG, Brant LJ, Talbot LA, Wright JG, Lakatta EG. Accelerated longitudinal decline of aerobic capacity in healthy older adults. *Circulation*. 2005;112(5):674-82.

Folland JP, Williams AG. The adaptations to strength training: morphological and neurological contributions to increased strength. *Sports Med*. 2007;37(2):145-68.

Fragala MS, Fukuda DH, Stout JR, Townsend JR, Emerson NS, Boone CH, Beyer KS, Oliveira LP, Hoffman JR. Muscle quality index improves with resistance exercise training in older adults. *Exp Gerontol*. 2014;53:1-6.

Frank P, Andersson E, Pontén M, Ekblom B, Ekblom M, Sahlin K. Strength training improves muscle aerobic capacity and glucose tolerance in elderly. *Scand J Med Sci Sports*. 2016;26(7):764-73.

Gabriel DA, Kamen G, Frost G. Neural adaptations to resistive exercise: mechanisms and recommendations for training practices. *Sports Med*. 2006;36(2):133-49.

García-González JM. ¿Por qué vivimos más? Descomposición por causa de la esperanza de vida española de 1980 a 2009. *Rev Esp Investig Sociol*. 2014;148:39-60.

García-González JM. Contributions of cardiovascular mortality to Spanish life expectancy from 1980 to 2009. *Rev Esp Cardiol*. 2013;66(11):848-53.

Gaugler M, Brown A, Merrell E, DiSanto-Rose M, Rathmacher JA, Reynolds TH 4th. PKB signaling and atrogene expression in skeletal muscle of aged mice. *J Appl Physiol* (1985). 2011;111(1):192-9.

Gearhart RF Jr, Lagally KM, Riechman SE, Andrews RD, Robertson RJ. Safety of using the adult OMNI Resistance Exercise Scale to determine 1-RM in older men and women. *Percept Mot Skills*. 2011;113(2):671-6.

Gennuso KP, Zalewski K, Cashin SE, Strath SJ. Resistance training congruent with minimal guidelines improves function in older adults: a pilot study. *J Phys Act Health*. 2013;10(6):769-76.

Gerage AM, Forjaz CL, Nascimento MA, Januário RS, Polito MD, Cyrino ES. Cardiovascular adaptations to resistance training in elderly postmenopausal women. *Int J Sports Med*. 2013;34(9):806-13.

Gioscia-Ryan RA, Battson ML, Cuevas LM, Zigler MC, Sindler AL, Seals DR. Voluntary aerobic exercise increases arterial resilience and mitochondrial health with aging in mice. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(11):2897-914.

Gluchowski A, Harris N, Dulson D, Cronin J. Chronic Eccentric Exercise and the Older Adult. *Sports Med*. 2015;45(10):1413-30.

Goldsmith TC. Modern evolutionary mechanics theories and resolving the programmed/non-programmed aging controversy. *Biochemistry (Mosc)*. 2014;79(10):1049-55.

Gomes LC, Scorrano L. Mitochondrial morphology in mitophagy and macroautophagy. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1833(1):205-12.

Gonzalez-Freire M, de Cabo R, Bernier M, Sollott SJ, Fabbri E, Navas P, Ferrucci L. Reconsidering the Role of Mitochondria in Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2015;70(11):1334-42.

Goolsby MA, Boniquit N. Bone Health in Athletes. *Sports Health*. 2017;9(2):108-117.

Gottlieb RA, Carreira RS. Autophagy in health and disease. 5. Mitophagy as a way of life. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010;299(2):C203-10.

Gouspillou G, Sgarioto N, Norris B, Barbat-Artigas S, Aubertin-Leheudre M, Morais JA, Burelle Y, Taivassalo T, Hepple RT. The relationship between muscle fiber type-specific PGC-1 $\alpha$  content and mitochondrial content varies between rodent models and humans. *PLoS One*. 2014;9(8):e103044.

Gouveia ÉR, Maia JA, Beunen GP, Blimkie CJ, Fena EM, Freitas DL. Functional fitness and physical activity of Portuguese community-residing older adults. *J Aging Phys Act*. 2013;21(1):1-19.

Gram M, Vigelsø A, Yokota T, Hansen CN, Helge JW, Hey-Mogensen M, et al. Two weeks of one-leg immobilization decreases skeletal muscle respiratory capacity equally in young and elderly men. *Exp Gerontol*. 2014;58:269-78.

Granacher U, Gollhofer A, Hortobágyi T, Kressig RW, Muehlbauer T. The importance of trunk muscle strength for balance, functional performance, and fall prevention in seniors: a systematic review. *Sports Med*. 2013;43(7):627-41.

Granacher U, Lacroix A, Muehlbauer T, Roettger K, Gollhofer A. Effects of core instability strength training on trunk muscle strength, spinal mobility dynamic balance and functional mobility in older adults. *Gerontology*. 2013;59(2):105-13.

Gurjão AL, Gobbi LT, Carneiro NH, Gonçalves R, Ferreira de Moura R, Cyrino ES, Altimari LR, Gobbi S. Effect of strength training on rate of force development in older women. *Res Q Exerc Sport*. 2012;83(2):268-75.

Gusdon AM, Callio J, Distefano G, O'Doherty RM, Goodpaster BH, Coen PM, Chu CT. Exercise increases mitochondrial complex I activity and DRP1 expression in the brains of aged mice. *Exp Gerontol*. 2017;90:1-13.

Hamacher-Brady A, Brady NR. Mitophagy programs: mechanisms and physiological implications of mitochondrial targeting by autophagy. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(4):775-95.

Harber MP, Konopka AR, Udem MK, Hinkley JM, Minchev K, Kaminsky LA, Trappe TA, Trappe S. Aerobic exercise training induces skeletal muscle hypertrophy and agedependent adaptations in myofiber function in young and older men. *J Appl Physiol.* 2012;113(9):1495-504.

Harman D. The aging process. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1981;78(11):7124-8.

Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(8):1423-34.

Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, McCloskey EV, Jönsson B, Kanis JA. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos.* 2013;8:136.

Hu L, Yao X, Shen Y. Altered mitochondrial DNA copy number contributes to human cancer risk: evidence from an updated meta-analysis. *Sci Rep.* 2016;6:35859.

Huovinen V, Ivaska KK, Kiviranta R, Bucci M, Lipponen H, Sandboge S, Raiko J, Eriksson JG, Parkkola R, Iozzo P, Nuutila P. Bone mineral density is increased after a 16-week resistance training intervention in elderly women with decreased muscle strength. *Eur J Endocrinol.* 2016;175(6):571-82.

Instituto Nacional de Estadística (INE). Principales series de población desde 1998. Población (españoles/extranjeros) por edad (grupos quinquenales), sexo y año. Disponible en: <http://www.ine.es/jaxi/Tabla.htm?path=/t20/e245/p08/l0/&file=02002.px>.

Consultado en: 07/02/2017.

Instituto Nacional de Estadística (INE). Proyección de la Población de España 2014–2064. 2014. Disponible en: [www.ine.es/prensa/np870.pdf](http://www.ine.es/prensa/np870.pdf). Consultado en: 07/02/2017.

International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK). International standards for anthropometric assessment. Adelaid: National Library of Australia; 2011.

Iversen N, Krstrup P, Rasmussen HN, Rasmussen UF, Saltin B, Pilegaard H. Mitochondrial biogenesis and angiogenesis in skeletal muscle of the elderly. *Exp Gerontol*. 2011;46(8):670-8.

Jacob JA, Salmani JM, Jiang Z, Feng L, Song J, Jia X, Chen B. Autophagy: An overview and its roles in cancer and obesity. *Clin Chim Acta*. 2017;468:85-89.

Jaeger C. Fisiología del envejecimiento. EMC - Kinesiterapia - Medicina Física. 2011;32(3):1-8.

Jamart C, Benoit N, Raymackers JM, Kim HJ, Kim CK, Francaux M. Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(8):3173-7.b

Jensen MB, Jasper H. Mitochondrial proteostasis in the control of aging and longevity. *Cell Metab*. 2014;20(2):214-25.

Johannsen DL, Conley KE, Bajpeyi S, Punyanitya M, Gallagher D, Zhang Z, Covington J, Smith SR, Ravussin E. Ectopic lipid accumulation and reduced glucose tolerance in elderly adults are accompanied by altered skeletal muscle mitochondrial activity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(1):242-50.

Joseph AM, Adhihetty PJ, Buford TW, Wohlgemuth SE, Lees HA, Nguyen LM, Aranda JM, Sandesara BD, Pahor M, Manini TM, Marzetti E, Leeuwenburgh C. The impact of aging on mitochondrial function and biogenesis pathways in skeletal muscle of sedentary high- and low-functioning elderly individuals. *Aging Cell*. 2012;11(5):801-9.

Joseph AM, Adhietty PJ, Wawrzyniak NR, Wohlgemuth SE, Picca A, Kujoth GC, et al. Dysregulation of mitochondrial quality control processes contribute to sarcopenia in a mouse model of premature aging. *PLoS One*. 2013;8(7):e69327.

Ju JS, Jeon SI, Park JY, Lee JY, Lee SC, Cho KJ, et al. Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. *J Physiol Sci*. 2016;66(5):417-30.

Jung H, Yamasaki M. Association of lower extremity range of motion and muscle strength with physical performance of community-dwelling older women. *J Physiol Anthropol*. 2016;35(1):30.

Jura M, Kozak LP. Obesity and related consequences to ageing. *Age (Dordr)*. 2016;38(1):23.

Kalish VB. Obesity in Older Adults. *Prim Care*. 2016;43(1):137-44, ix.

Kang C, Chung E, Diffie G, Ji LL. Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 $\alpha$ . *Exp Gerontol*. 2013;48(11):1343-50.

Kauppila TE, Kauppila JH, Larsson NG. Mammalian Mitochondria and Aging: An Update. *Cell Metab*. 2017;25(1):57-71.

Kim HJ, So B, Choi M, Kang D, Song W. Resistance exercise training increases the expression of irisin concomitant with improvement of muscle function in aging mice and humans. *Exp Gerontol*. 2015;70:11-7.

Kim JE, O'Connor LE, Sands LP, Slebodnik MB, Campbell WW. Effects of dietary protein intake on body composition changes after weight loss in older adults: a systematic review and meta-analysis. *Nutr Rev*. 2016;74(3):210-24.

Kimura K, Obuchi S, Arai T, Nagasawa H, Shiba Y, Watanabe S, Kojima M. The influence of short-term strength training on health-related quality of life and executive cognitive function. *J Physiol Anthropol*. 2010;29(3):95-101.

- King M, Lipsky MS. Clinical implications of aging. *Dis Mon.* 2015;61(11):467-74.
- Kirkwood TB, Melov S. On the programmed/non-programmed nature of ageing within the life history. *Curr Biol.* 2011;21(18):R701-7.
- Kirkwood TB. Systems biology of ageing and longevity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2011;366(1561):64-70.
- Klein SL, Flanagan KL. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol.* 2016;16(10):626-38.
- Klenk J, Keil U, Jaensch A, Christiansen MC, Nagel G. Changes in life expectancy 1950-2010: contributions from age- and disease-specific mortality in selected countries. *Popul Health Metr.* 2016;14:20.
- Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, Abedin MJ, Abeliovich H, Acevedo et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy.* 2016;12(1):1-222.
- Knuppertz L, Osiewacz HD. Orchestrating the network of molecular pathways affecting aging: Role of nonselective autophagy and mitophagy. *Mech Ageing Dev.* 2016;153:30-40.
- Ko F, Abadir P, Marx R, Westbrook R, Cooke C, Yang H, et al. Impaired mitochondrial degradation by autophagy in the skeletal muscle of the aged female interleukin 10 null mouse. *Exp Gerontol.* 2016;73:23-7.
- Kobayashi Y, Ueyasu Y, Yamashita Y, Akagi R. Effects of 4 Weeks of Explosive-type Strength Training for the Plantar Flexors on the Rate of Torque Development and Postural Stability in Elderly Individuals. *Int J Sports Med.* 2016;37(6):470-5.
- Koltai E, Hart N, Taylor AW, Goto S, Ngo JK, Davies KJ, Radak Z. Age-associated declines in mitochondrial biogenesis and protein quality control factors are minimized by exercise training. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2012;303(2):R127-34.

Konopka AR, Suer MK, Wolff CA, Harber MP. Markers of human skeletal muscle mitochondrial biogenesis and quality control: effects of age and aerobic exercise training. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014;69(4):371-8.

Krestinina O, Azarashvili T, Baburina Y Galvita A, Grachev D, Stricker R, Reiser G. In aging, the vulnerability of rat brain mitochondria is enhanced due to reduced level of 2',3'-cyclic nucleotide-3'-phosphodiesterase (CNP) and subsequently increased permeability transition in brain mitochondria in old animals. *Neurochem Int*. 2015;80:41-50.

Lam NW, Goh HT, Kamaruzzaman SB, Chin AV, Poi PJ, Tan MP. Normative data for hand grip strength and key pinch strength, stratified by age and gender for a multi-ethnic Asian population. *Singapore Med J*. 2015 Nov 13. doi: 10.11622/smedj.2015164. [Epub ahead of print].

Lanza IR, Short DK, Short KR, Raghavakaimal S, Basu R, Joyner MJ, McConnell JP, Nair KS. Endurance exercise as a countermeasure for aging. *Diabetes*. 2008;57(11):2933-42.

Latorre-Roman PA, Izquierdo-Sanchez JM, Salas-Sanchez J, Garcia-Pinillos F. Comparative analysis between two models of active aging and its influence on body composition, strength levels and quality of life: long-distance runners versus bodybuilders practitioners. *Nutr Hosp*. 2015;31(4):1717-25.

Leduc-Gaudet JP, Picard M, St-Jean Pelletier F, Sgarioto N, Auger MJ, Vallée J, Robitaille R, St-Pierre DH, Gouspillou G. Mitochondrial morphology is altered in atrophied skeletal muscle of aged mice. *Oncotarget*. 2015;6(20):17923-37.

Lee IH, Park SY. Balance improvement by strength training for the elderly. *J Phys Ther Sci*. 2013;25(12):1591-3.

Lemmey AB, Williams SL, Marcora SM, Jones J, Maddison PJ. Are the benefits of a high-intensity progressive resistance training program sustained in rheumatoid arthritis patients? A 3-year followup study. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2012;64(1):71-5.

Liao MT, Liu WC, Lin FH, Huang CF, Chen SY, Liu CC, Lin SH, Lu KC, Wu CC. Intradialytic aerobic cycling exercise alleviates inflammation and improves endothelial progenitor cell count and bone density in hemodialysis patients. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(27):e4134.

Lin F. Autophagy in renal tubular injury and repair. *Acta Physiol (Oxf)*. 2017. doi: 10.1111/apha.12852. [Epub ahead of print].

Lippai M, Szatmári Z. Autophagy-from molecular mechanisms to clinical relevance. *Cell Biol Toxicol*. 2017;33(2):145-168.

Lipsky MS, King M. Biological theories of aging. *Dis Mon*. 2015;61(11):460-6.

Liu KE, Frazier WA. Phosphorylation of the BNIP3 C-Terminus Inhibits Mitochondrial Damage and Cell Death without Blocking Autophagy. *PLoS One*. 2015;10(6):e0129667.

Liu L, Webster TJ. In Situ Sensor Advancements for Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Treatment. *Curr Osteoporos Rep*. 2016;14(6):386-395.

Ljubicic V, Joseph AM, Adihetty PJ, Huang JH, Saleem A, Uguccioni G, Hood DA. Molecular basis for an attenuated mitochondrial adaptive plasticity in aged skeletal muscle. *Aging (Albany NY)*. 2009;1(9):818-30.

Lohne-Seiler H, Torstveit MK, Anderssen SA. Traditional versus functional strength training: effects on muscle strength and power in the elderly. *J Aging Phys Act*. 2013;21(1):51-70.

Longo VD, Mitteldorf J, Skulachev VP. Programmed and altruistic ageing. *Nat Rev Genet*. 2005;6(11):866-72.

Lorentzon M, Cummings SR. Osteoporosis: the evolution of a diagnosis. *J Intern Med*. 2015;277(6):650-61.

Lowndes J, Carpenter RL, Zoeller RF, Seip RL, Moyna NM, Price TB, Clarkson PM, Gordon PM, Pescatello LS, Visich PS, Devaney JM, Gordish-Dressman H, Hoffman EP, Thompson PD, Angelopoulos TJ. Association of age with muscle

size and strength before and after short-term resistance training in young adults. *J Strength Cond Res.* 2009;23(7):1915-20.

Lubans DR, Munday CM, Lubans NJ, Lonsdale CC. Pilot randomized controlled trial: elastic-resistance-training and lifestyle-activity intervention for sedentary older adults. *J Aging Phys Act.* 2013;21(1):20-32.

Maroto-Izquierdo S, García-López D, Fernandez-Gonzalo R, Moreira OC, González-Gallego J, de Paz JA. Skeletal muscle functional and structural adaptations after eccentric overload flywheel resistance training: a systematic review and meta-analysis. *J Sci Med Sport.* 2017. pii: S1440-2440(17)30333-X. [Epub ahead of print]

Marques EA, Mota J, Viana JL, Tuna D, Figueiredo P, Guimarães JT, Carvalho J. Response of bone mineral density inflammatory cytokines, and biochemical bone markers to a 32-week combined loading exercise programme in older men and women. *Arch Gerontol Geriatr.* 2013;57(2):226-33.

Martins WR, Safons MP, Bottaro M, Blasczyk JC, Diniz LR, Fonseca RM, Bonini-Rocha AC, de Oliveira RJ. Effects of short term elastic resistance training on muscle mass and strength in untrained older adults: a randomized clinical trial. *BMC Geriatr.* 2015;15:99.

Marzani B, Pansarasa O, Marzatico F. "Oxidative stress" and muscle aging: influence of age, sex, fiber composition and function. *Basic Appl Myol.* 2004;14:37-44.

Matos DG, Mazini Filho ML, Moreira OC, DE Oliveira CE, DE Oliveira Venturini GR, DA Silva-Grigoletto ME, Aida FJ. Effects of eight weeks of functional training in the functional autonomy of elderly women: a pilot study. *J Sports Med Phys Fitness.* 2017;57(3):272-277.

Matsuda N. Phospho-ubiquitin: upending the PINK-Parkin-ubiquitin cascade. *J Biochem.* 2016;159(4):379-85.

Mazini Filho ML, Aidar FJ, Gama de Matos D, Costa Moreira O, Patrocínio de Oliveira CE, de Oliveira Venturini GR, Magalhães Curty V, Menezes Touguinha H, Caputo Ferreira ME. Circuit strength training improves muscle strength, functional performance and anthropometric indicators in sedentary elderly women. *J Sports Med Phys Fitness*. 2017. doi: 10.23736/S0022-4707.17.06903-1. [Epub ahead of print]

McKinnon NB, Connelly DM, Rice CL, Hunter SW, Doherty TJ. Neuromuscular contributions to the age-related reduction in muscle power: Mechanisms and potential role of high velocity power training. *Ageing Res Rev*. 2017;35:147-154.

McWilliams TG, Muqit MM. PINK1 and Parkin: emerging themes in mitochondrial homeostasis. *Curr Opin Cell Biol*. 2017;45:83-91.

Medina-Perez C, de Souza-Teixeira F, Fernandez-Gonzalo R, de Paz-Fernandez JA. Effects of a resistance training program and subsequent detraining on muscle strength and muscle power in multiple sclerosis patients. *NeuroRehabilitation*. 2014;34(3):523-30.

Medvedev ZA. An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 1990;65(3):375-98.

Mejías-Peña Y Estébanez B, Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M, de Paz JA, González-Gallego J, Cuevas MJ. Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects. *Aging (Albany NY)*. 2017;9(2):408-418.

Mejías-Peña Y Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Martínez-Flórez S, Almar M, de Paz JA, Cuevas MJ, González-Gallego J. Effects of aerobic training on markers of autophagy in the elderly. *Age (Dordr)*. 2016;38(2):33.

Meléndez A, Tallóczy Z, Seaman M, Eskelinen EL, Hall DH, Levine B. Autophagy genes are essential for dauer development and life-span extension in *C. elegans*. *Science*. 2003;301(5638):1387-91.

Messer JS. The cellular autophagy/apoptosis checkpoint during inflammation. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74(7):1281-1296.

Mielenz TJ, Durbin LL, Cisewski JA, Guralnik JM, Li G. Select physical performance measures and driving outcomes in older adults. *Inj Epidemiol.* 2017;4(1):14.

Min L, Choy E, Pollock RE, Tu C, Hornicek F, Duan Z. Autophagy as a potential target for sarcoma treatment. *Biochim Biophys Acta.* 2017;1868(1):40-50.

Minges KE, Cormick G, Unglik E, Dunstan DW. Evaluation of a resistance training program for adults with or at risk of developing diabetes: an effectiveness study in a community setting. *Int J Behav Nutr Phys Act.* 2011;8:50.

Mishra P, Chan DC. Metabolic regulation of mitochondrial dynamics. *J Cell Biol.* 2016;212(4):379-87.

Moran J, Sandercock GR, Ramírez-Campillo R, Meylan C, Collison J, Parry DA. A meta-analysis of maturation-related variation in adolescent boy athletes' adaptations to short-term resistance training. *J Sports Sci.* 2017;35(11):1041-1051.

Moreira OC, de Oliveira CE, Candia-Luján R, Romero-Pérez EM, de Paz Fernandez JA. Methods of evaluation of muscle mass: a systematic review of randomized controlled trials. *Nutr Hosp.* 2015;32(3):977-85.

Moreira OC, Estébanez B, Martínez-Florez S, de Paz JA, Cuevas MJ, González-Gallego J. Mitochondrial Function and Mitophagy in the Elderly: Effects of Exercise. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:2012798

Moreira OC, Lopes GS, de Matos DG, Mazini-Filho ML, Aidar FJ, Silva SF, Oliveira CEP. Impact of two hydrogymnastics class methodologies on the functional capacity and flexibility of elderly women. *J Sports Med Phys Fitness.* 2018. doi: 10.23736/S0022-4707.17.07872-0. [Epub ahead of print]

Moreira OC, Oliveira CEP, de Paz JA. Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) reliability and intraobserver reproducibility for segmental body composition measuring. *Nutr Hosp*. 2018. doi: 10.20960/nh.1295. [Epub ahead of print]

Moritani T, DeVries HA. Neural factors versus hypertrophy in the time course of muscle strength gain. *Am J Phys Med*. 1979;58(3):115–30.

Mouton-Liger F, Jacoupy M, Corvol JC, Corti O. PINK1/Parkin-Dependent Mitochondrial Surveillance: From Pleiotropy to Parkinson's Disease. *Front Mol Neurosci*. 2017;10:120.

Muehlbauer T, Gollhofer A, Granacher U. Associations Between Measures of Balance and Lower-Extremity Muscle Strength/Power in Healthy Individuals Across the Lifespan: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Med*. 2015;45(12):1671-92.

Nargund AM, Fiorese CJ, Pellegrino MW, Deng P, Haynes CM. Mitochondrial and nuclear accumulation of the transcription factor ATF5-1 promotes OXPHOS recovery during the UPR(mt). *Mol Cell*. 2015;58(1):123-33.

Neel JV. Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet*. 1962;14:353-62.

Ney PA. Mitochondrial autophagy: Origins, significance, and role of BNIP3 and NIX. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1853(10 Pt B):2775-83.

Niemann J, Johne C, Schröder S, Koch F, Ibrahim SM, Schultz J, Tiedge M, Baltrusch S. An mtDNA mutation accelerates liver aging by interfering with the ROS response and mitochondrial life cycle. *Free Radic Biol Med*. 2017;102:174-187.

Nilsson M, Sundh D, Mellström D, Lorentzon M. Current Physical Activity Is Independently Associated With Cortical Bone Size and Bone Strength in Elderly Swedish Women. *J Bone Miner Res*. 2017;32(3):473-485.

Novak I. Mitophagy: a complex mechanism of mitochondrial removal. *Antioxid Redox Signal*. 2012;17(5):794-802.

Office of the Surgeon General (US). Bone Health and Osteoporosis: A Report of the Surgeon General. Rockville (MD): Office of the Surgeon General (US); 2004.

Ogborn DI, McKay BR, Crane JD, Safdar A, Akhtar M, Parise G, et al. Effects of age and unaccustomed resistance exercise on mitochondrial transcript and protein abundance in skeletal muscle of men. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2015;308(8):R734-41.

O'Leary MF, Vainshtein A, Iqbal S, Ostojic O, Hood DA. Adaptive plasticity of autophagic proteins to denervation in aging skeletal muscle. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2013;304(5):C422-30.

Oliveira CEP, Moreira OC, Pereira LS, Doimo LA. Effect of eight weeks of gymnastics training on body composition in sedentary women. *R Bras Ci e Mov*. 2013;21(3):134-40.

Palacios OM, Carmona JJ, Michan S, Chen KY, Manabe Y, Ward JL 3rd, Goodyear LJ, Tong Q. Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1alpha in skeletal muscle. *Aging (Albany NY)*. 2009;1(9):771-83.

Palikaras K, Tavernarakis N. Mitochondrial homeostasis: the interplay between mitophagy and mitochondrial biogenesis. *Exp Gerontol*. 2014;56:182-8.

Patiño-Villada FA, Arboleda-Franco SA, de Paz-Fernández JA. Sarcopenia in community-dwelling persons over 60 years of age from a northern Spanish city: relationship between diagnostic criteria and association with the functional performance. *Nutr Hosp*. 2015;31(5):2154-60.

Payne BA, Chinnery PF. Mitochondrial dysfunction in aging: Much progress but many unresolved questions. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1847(11):1347-53.

Pedrero-Chamizo R, Gómez-Cabello A, Delgado S, Rodríguez-Llarena S, Rodríguez-Marroyo JA, Cabanillas E, Meléndez A, Vicente-Rodríguez G, Aznar S, Villa G, Espino L, Gusi N, Casajus JA, Ara I, González-Gross M; EXERNET

Study Group. Physical fitness levels among independent non-institutionalized Spanish elderly: the elderly EXERNET multi-center study. *Arch Gerontol Geriatr.* 2012;55(2):406-16.

Pellegrino MW, Nargund AM, Haynes CM. Signaling the mitochondrial unfolded protein response. *Biochim Biophys Acta.* 2013;1833(2):410-6.

Pemberthy-López C, Jaramillo-Gómez N, Mejía CAV, Cardona-Vélez J, Contreras-Martínez H, Jaramillo-Restrepo V. Current concepts of aging and cardiovascular disease. *Rev Colomb Cardiol.* 2016;23(3):210-217.

Pennell LM, Galligan CL, Fish EN. Sex affects immunity. *J Autoimmun.* 2012;38(2-3):J282-91.

Peterson MD, Sen A, Gordon PM. Influence of resistance exercise on lean body mass in aging adults: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43(2):249-58.

Picard M, Gentil BJ, McManus MJ, White K, St Louis K, Gartside SE, Wallace DC, Turnbull DM. Acute exercise remodels mitochondrial membrane interactions in mouse skeletal muscle. *J Appl Physiol* (1985). 2013;115(10):1562-71.

Picca A, Fracasso F, Pesce V, Cantatore P, Joseph AM, Leeuwenburgh C, Gadaleta MN, Lezza AM. Age- and calorie restriction-related changes in rat brain mitochondrial DNA and TFAM binding. *Age (Dordr).* 2013;35(5):1607-20.a

Picca A, Pesce V, Fracasso F, Joseph AM, Leeuwenburgh C, Lezza AM. Aging and calorie restriction oppositely affect mitochondrial biogenesis through TFAM binding at both origins of mitochondrial DNA replication in rat liver. *PLoS One.* 2013;8(9):e74644.b

Picca A, Pesce V, Fracasso F, Joseph AM, Leeuwenburgh C, Lezza AM. A comparison among the tissue-specific effects of aging and calorie restriction on TFAM amount and TFAM-binding activity to mtDNA in rat. *Biochim Biophys Acta.* 2014;1840(7):2184-91.

Piedrafita G, Keller MA, Ralser M. The Impact of Non-Enzymatic Reactions and Enzyme Promiscuity on Cellular Metabolism during (Oxidative) Stress Conditions. *Biomolecules*. 2015;5(3):2101-22.

Pinto RS, Correa CS, Radaelli R, Cadore EL, Brown LE, Bottaro M. Short-term strength training improves muscle quality and functional capacity of elderly women. *Age (Dordr)*. 2014;36(1):365-72.

Ploumi C, Daskalaki I, Tavernarakis N. Mitochondrial biogenesis and clearance: a balancing act. *FEBS J*. 2017;284(2):183-95.

Poulose N, Raju R. Sirtuin regulation in aging and injury. *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(11):2442-55.

Ramírez-Campillo R, Castillo A, de la Fuente CI, Campos-Jara C, Andrade DC, Álvarez C, Martínez C, Castro-Sepúlveda M, Pereira A, Marques MC, Izquierdo M. High-speed resistance training is more effective than low-speed resistance training to increase functional capacity and muscle performance in older women. *Exp Gerontol*. 2014;58:51-7.

Ramírez-Campillo R, Martínez C, de La Fuente CI, Cadore EL, Marques MC, Nakamura FY Loturco I, Caniuqueo A, Cañas R, Izquierdo M. High-Speed Resistance Training in Older Women: The Role of Supervision. *J Aging Phys Act*. 2017;25(1):1-9.

Reggiori F, Ungermann C. Autophagosome Maturation and Fusion. *J Mol Biol*. 2017;429(4):486-496.

Regitz-Zagrosek V. Sex and gender differences in health. *Science & Society Series on Sex and Science*. *EMBO Rep*. 2012;13(7):596-603.

Reid KF, Fielding RA. Skeletal muscle power: a critical determinant of physical functioning in older adults. *Exerc Sport Sci Rev*. 2012;40(1):4-12.

Reid KF, Naumova EN, Carabello RJ, Phillips EM, Fielding RA. Lower extremity muscle mass predicts functional performance in mobility-limited elders. *J Nutr Health Aging*. 2008;12(7):493-8.

---

Rikli RE, Jones CJ. Development and validation of a functional fitness test for community-residing older adults. *J Aging Phys Act.* 1999;7(2):129-61.

Rikli RE, Jones CJ. Development and validation of criterion-referenced clinically relevant fitness standards for maintaining physical independence in later years. *Gerontologist.* 2013;53(2):255-67.

Rinnerthaler M, Bischof J, Streubel MK, Trost A, Richter K. Oxidative stress in aging human skin. *Biomolecules.* 2015;5(2):545-89.

Robertson RJ, Goss FL, Rutkowski J, Lenz B, Dixon C, Timmer J, Frazee K, Dube J, Andreacci J. Concurrent validation of the OMNI perceived exertion scale for resistance exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35(2):333-41.

Rodríguez Mañas L. The World Health Organization report on ageing and health: A gift for the geriatrics community. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 2016;51(5):249-51.

Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Almar M, Mejías Y Rivas A, de Paz JA, Cuevas MJ, González-Gallego J. Role of Toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways on the inflammatory response to resistance training in elderly subjects. *Age (Dordr).* 2014;36(6):9734.

Rodriguez-Miguel P, Fernandez-Gonzalo R, Collado PS, Almar M, Martinez-Florez S, de Paz JA, González-Gallego J, Cuevas MJ. Whole-body vibration improves the anti-inflammatory status in elderly subjects through toll-like receptor 2 and 4 signaling pathways. *Mech Ageing Dev.* 2015;150:12-9.

Romero-Franco N, Jiménez-Reyes P, Montaña-Munuera JA. Validity and reliability of a low-cost digital dynamometer for measuring isometric strength of lower limb. *J Sports Sci.* 2016 Nov 24:1-6. doi: 10.1080/02640414.2016.1260152. [Epub ahead of print]

Safdar A, Hamadeh MJ, Kaczor JJ, Raha S, Debeer J, Tarnopolsky MA. Aberrant mitochondrial homeostasis in the skeletal muscle of sedentary older adults. *PLoS One.* 2010;5(5):e10778.

Salech MF, Jara LR, Michea AL. Physiological changes associated with normal aging. *Rev Med Clin Condes*. 2012; 23(1) 19-29.

Sanchez AM, Bernardi H, Py G, Candau RB. Autophagy is essential to support skeletal muscle plasticity in response to endurance exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2014;307(8):R956-69.

Sandoval H, Thiagarajan P, Dasgupta SK, Schumacher A, Prchal JT, Chen M, Wang J. Essential role for Nix in autophagic maturation of erythroid cells. *Nature*. 2008;454(7201):232-5.

Sañudo B, de Hoyo M, Del Pozo-Cruz J, Carrasco L, Del Pozo-Cruz B, Tejero S, Firth E. A systematic review of the exercise effect on bone health: the importance of assessing mechanical loading in perimenopausal and postmenopausal women. *Menopause*. 2017 doi: 10.1097/GME.0000000000000872. [Epub ahead of print].

Sanz A. Mitochondrial reactive oxygen species: Do they extend or shorten animal lifespan? *Biochim Biophys Acta*. 2016;1857(8):1116-26.

Sayers SP, Gibson K. High-speed power training in older adults: a shift of the external resistance at which peak power is produced. *J Strength Cond Res*. 2014;28(3):616-21.

Sayers SP. High velocity power training in older adults. *Curr Aging Sci*. 2008;1(1):62-7.

Scanlon TC, Fragala MS, Stout JR, Emerson NS, Beyer KS, Oliveira LP, Hoffman JR. Muscle architecture and strength: adaptations to short-term resistance training in older adults. *Muscle Nerve*. 2014;49(4):584-92.

Scarffe LA, Stevens DA, Dawson VL, Dawson TM. Parkin and PINK1: much more than mitophagy. *Trends Neurosci*. 2014;37(6):315-24.

Schaap LA, Koster A, Visser M. Adiposity muscle mass, and muscle strength in relation to functional decline in older persons. *Epidemiol Rev*. 2013;35:51-65.

Schoenfeld BJ, Ogborn DI, Krieger JW. Effect of repetition duration during resistance training on muscle hypertrophy: a systematic review and meta-analysis. *Sports Med.* 2015;45(4):577–85.

Schwalm C, Deldicque L, Francaux M. Lack of Activation of Mitophagy During Endurance Exercise in Human. *Med Sci Sports Exerc.* 2017. doi: 10.1249/MSS.0000000000001256. [Epub ahead of print]

Schweers RL, Zhang J, Randall MS, Loyd MR, Li W, Dorsey FC, Kundu M, Opferman JT, Cleveland JL, Miller JL, Ney PA. NIX is required for programmed mitochondrial clearance during reticulocyte maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104(49):19500-5.

Scott D, Seibel M, Cumming R, Naganathan V, Blyth F, Le Couteur DG, Handelsman DJ, Waite LM, Hirani V. Sarcopenic Obesity and Its Temporal Associations With Changes in Bone Mineral Density Incident Falls, and Fractures in Older Men: The Concord Health and Ageing in Men Project. *J Bone Miner Res.* 2017;32(3):575-583.

Sebastián D, Sorianello E, Segalés J, Irazoki A, Ruiz-Bonilla V, Sala D, Planet E, Berenguer-Llargo A, Muñoz JP, Sánchez-Feutrie M, Plana N, Hernández-Álvarez MI, Serrano AL, Palacín M, Zorzano A. Mfn2 deficiency links age-related sarcopenia and impaired autophagy to activation of an adaptive mitophagy pathway. *EMBO J.* 2016;35(15):1677-93.

Selye H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J Clin Endocrinol Metab.* 1946;6:117-230.

Sgarbi G, Matarrese P, Pinti M, Lanzarini C, Ascione B, Gibellini L, Dika E, Patrizi A, Tommasino C, Capri M, Cossarizza A, Baracca A, Lenaz G, Solaini G, Franceschi C, Malorni W, Salvioli S. Mitochondria hyperfusion and elevated autophagic activity are key mechanisms for cellular bioenergetic preservation in centenarians. *Aging (Albany NY).* 2014;6(4):296-310.

Sharrow DJ, Anderson JJ. Quantifying Intrinsic and Extrinsic Contributions to Human Longevity: Application of a Two-Process Vitality Model to the Human Mortality Database. *Demography*. 2016;53(6):2105-2119.

Shephard RJ. Par-Q, Canadian Home Fitness Test and screening alternatives. *Sports Medicine* 1988;5(3):185-95.

Shokolenko IN, Wilson GL, Alexeyev MF. Aging: A mitochondrial DNA perspective, critical analysis and an update. *World J Exp Med*. 2014;4(4):46-57.

Silva Correa C, Nestor Wilhelm E, Lusa Cadore E, Geremia J, Costa Teixeira B, Reischak de Oliveira A, Silveira Pinto R. Strength training with stretch-shortening cycle exercises optimizes neuromuscular economy during functional tasks in elderly women. *Science & Sports*. 2014; 29(1):27-33.

Smith WN, Del Rossi G, Adams JB, Abderlahman KZ, Asfour SA, Roos BA, Signorile JF. Simple equations to predict concentric lower-body muscle power in older adults using the 30-second chair-rise test: a pilot study. *Clin Interv Aging*. 2010;5:173-80.

Smolarek AC, Ferreira LH, Mascarenhas LP, McAnulty SR, Varela KD, Dangui MC, de Barros MP, Utter AC, Souza-Junior TP. The effects of strength training on cognitive performance in elderly women. *Clin Interv Aging*. 2016;11:749-54.

Soriano MA, Jiménez-Reyes P, Rhea MR, Marín PJ. The Optimal Load for Maximal Power Production During Lower-Body Resistance Exercises: A Meta-Analysis. *Sports Med*. 2015 Aug;45(8):1191-205. doi: 10.1007/s40279-015-0341-8.

Soriano MA, Suchomel TJ, Marín PJ. The Optimal Load for Maximal Power Production During Upper-Body Resistance Exercises: A Meta-Analysis. *Sports Med*. 2017;47(4):757-768.

Springer MZ, Macleod KF. In Brief: Mitophagy: mechanisms and role in human disease. *J Pathol*. 2016;240(3):253-5.

Stauch KL, Purnell PR, Fox HS. Aging synaptic mitochondria exhibit dynamic proteomic changes while maintaining bioenergetic function. *Aging (Albany NY)*. 2014;6(4):320-34.

Steves CJ, Spector TD, Jackson SH. Ageing, genes, environment and epigenetics: what twin studies tell us now, and in the future. *Age Ageing*. 2012;41(5):581–6.

Svedbom A1, Hernlund E, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, McCloskey EV, Jönsson B, Kanis JA; EU Review Panel of IOF. Osteoporosis in the European Union: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos*. 2013;8:137.

Swart C, Du Toit A, Loos B. Autophagy and the invisible line between life and death. *Eur J Cell Biol*. 2016;95(12):598-610.

Taboonpong S, Puthsri N, Kong-In W, Saejew A. The Effects of Tai Chi on Sleep Quality Well-Being and Physical Performances among Older Adults. *Thai J Nurs Res* 2008;12(1):1-13.

Tam BT, Siu PM. Autophagic cellular responses to physical exercise in skeletal muscle. *Sports Med*. 2014;44(5):625-40.

Tan CC, Yu JT, Tan MS, Jiang T, Zhu XC, Tan L. Autophagy in aging and neurodegenerative diseases: implications for pathogenesis and therapy. *Neurobiol Aging*. 2014;35(5):941-57.

Tanner RE, Bruncker LB, Agergaard J, Barrows KM, Briggs RA, Kwon OS, et al. Age-related differences in lean mass, protein synthesis and skeletal muscle markers of proteolysis after bed rest and exercise rehabilitation. *J Physiol*. 2015;593(18):4259-73.

Tarnopolsky MA, Rennie CD, Robertshaw HA, Fedak-Tarnopolsky SN, Devries MC, Hamadeh MJ. Influence of endurance exercise training and sex on intramyocellular lipid and mitochondrial ultrastructure, substrate use, and

mitochondrial enzyme activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007;292(3):R1271-8.

Teodoro BG, Moreira OC, Peluzio MCG, Natali AJ. Resposta das citocinas ao exercício físico. *Lect Educ Fís Deportes*. 2010;15(144):1-8.

Tezze C, Romanello V, Desbats MA, Fadini GP, Albiero M, Favaro G, Ciciliot S, Soriano ME, Morbidoni V, Cerqua C, Loeffler S, Kern H, Franceschi C, Salvioli S, Conte M, Blaauw B, Zampieri S, Salviati L, Scorrano L, Sandri M. Age-Associated Loss of OPA1 in Muscle Impacts Muscle Mass, Metabolic Homeostasis, Systemic Inflammation, and Epithelial Senescence. *Cell Metab*. 2017;25(6):1374-89.

Thanan R, Oikawa S, Hiraku Y, Ohnishi S, Ma N, Pinlaor S, Yongvanit P, Kawanishi S, Murata M. Oxidative stress and its significant roles in neurodegenerative diseases and cancer. *Int J Mol Sci*. 2014;16(1):193-217.

Tian Y, Merkwirth C, Dillin A. Mitochondrial UPR: A Double-Edged Sword. *Trends Cell Biol*. 2016;26(8):563-5.

Toraman NF. Short term and long term detraining: is there any difference between young-old and old people? *Br J Sports Med*. 2005;39(8):561-4.

Uth J, Hornstrup T, Christensen JF, Christensen KB, Jørgensen NR, Schmidt JF, Brasso K, Jakobsen MD, Sundstrup E, Andersen LL, Rørth M, Midtgaard J, Krstrup P, Helge EW. Efficacy of recreational football on bone health, body composition, and physical functioning in men with prostate cancer undergoing androgen deprivation therapy: 32-week follow-up of the FC prostate randomised controlled trial. *Osteoporos Int*. 2016;27(4):1507-18.

Valls MRB, Dimauro I, Brunelli A, Tranchita E, Ciminelli E, Caserotti P, Duranti G, Sabatini S, Parisi P, Parisi A, Caporossi D. Explosive type of moderate-resistance training induces functional, cardiovascular, and molecular adaptations in the elderly. *Age (Dordr)*. 2014;36(2):759-72.

Varanita T, Soriano ME, Romanello V, Zaglia T, Quintana-Cabrera R, Semenzato M, Menabò R, Costa V, Civiletto G, Pesce P, Viscomi C, Zeviani M, Di Lisa F, Mongillo M, Sandri M, Scorrano L. The OPA1-dependent mitochondrial cristae remodeling pathway controls atrophic, apoptotic, and ischemic tissue damage. *Cell Metab.* 2015;21(6):834-44.

Ventura-Clapier R, Moulin M, Piquereau J, Lemaire C, Mericskay M, Veksler V, Garnier A. Mitochondria: a central target for sex differences in pathologies. *Clin Sci (Lond).* 2017;131(9):803-22.

Viña J, Gomez-Cabrera MC, Borrás C, Froio T, Sanchis-Gomar F, Martínez-Bello VE, Pallardo FV. Mitochondrial biogenesis in exercise and in ageing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009;61(14):1369-74.

Walker S, Häkkinen K. Similar increases in strength after short-term resistance training due to different neuromuscular adaptations in young and older men. *J Strength Cond Res.* 2014;28(11):3041-8.

Watson SL, Weeks BK, Weis LJ, Horan SA, Beck BR. Heavy resistance training is safe and improves bone, function, and stature in postmenopausal women with low to very low bone mass: novel early findings from the LIFTMOR trial. *Osteoporos Int.* 2015;26(12):2889-94.

Witard OC, McGlory C, Hamilton DL, Phillips SM. Growing older with health and vitality: a nexus of physical activity exercise and nutrition. *Biogerontology.* 2016;17(3):529-46.

Wohlgemuth SE, Lees HA, Marzetti E, Manini TM, Aranda JM, Daniels MJ, et al. An exploratory analysis of the effects of a weight loss plus exercise program on cellular quality control mechanisms in older overweight women. *Rejuvenation Res.* 2011;14(3):315-24.

World Health Organization (WHO). World report on ageing and health. World Health Organization, 2015.

Wu DJ, Adamopoulos IE. Autophagy and autoimmunity. *Clin Immunol.* 2017;176:55-62.

Yin Z, Pascual C, Klionsky DJ. Autophagy: machinery and regulation. *Microb Cell.* 2016;3(12):588-596.

Zamboni M, Rossi AP, Fantin F, Zamboni G, Chirumbolo S, Zoico E, Mazzali G. Adipose tissue, diet and aging. *Mech Ageing Dev.* 2014;136-137:129-37.

Zampieri S, Pietrangelo L, Loeffler S, Fruhmann H, Vogelauer M, Burggraf S, et al. Lifelong physical exercise delays age-associated skeletal muscle decline. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2015;70(2):163-73.

Zech A, Drey M, Freiburger E, Hentschke C, Bauer JM, Sieber CC, Pfeifer K. Residual effects of muscle strength and muscle power training and detraining on physical function in community-dwelling prefrail older adults: a randomized controlled trial. *BMC Geriatr.* 2012;12:68.

Zhang J, Rane G, Dai X, Shanmugam MK, Arfuso F, Samy RP, et al. Ageing and the telomere connection: An intimate relationship with inflammation. *Ageing Res Rev.* 2016;25:55-69.

Zhang J. Teaching the basics of autophagy and mitophagy to redox biologists- Mechanisms and experimental approaches. *Redox Biol.* 2015;4:242-59.

Zhao J, Su Z, Qu C, Dong Y. Effects of 12 Weeks Resistance Training on Serum Irisin in Older Male Adults. *Front Physiol.* 2017;8:171.

Zhao R, Zhang M, Zhang Q. The Effectiveness of Combined Exercise Interventions for Preventing Postmenopausal Bone Loss: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2017;47(4):241-251.

Zimmermann EA, Busse B, Ritchie RO. The fracture mechanics of human bone: influence of disease and treatment. *Bonekey Rep.* 2015;4:743.

Zimmermann EA, Ritchie RO. Bone as a Structural Material. *Adv Healthc Mater.* 2015;4(9):1287-304.



## **13. *Anexos***

---



# **13.1. Anexo I**



# Métodos de evaluación de la composición corporal: una revisión actualizada de descripción, aplicación, ventajas y desventajas

Oswaldo Costa Moreira<sup>1,2</sup>, Diego A. Alonso-Aubin<sup>1</sup>, Cláudia E. Patrocínio de Oliveira<sup>1,3</sup>, Ramón Candia-Luján<sup>4</sup>, José A. de Paz<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biomedicina (IBIOMED). Universidad de León. España. <sup>2</sup>Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Universidade Federal de Viçosa. Campus Florestal. Minas Gerais. Brasil. <sup>3</sup>Departamento de Educação Física. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. Minas Gerais. Brasil. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias de la Cultura Física. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua. México.

**Recibido:** Resumen

**Aceptado:**

El estudio de la composición corporal es un tema de interés creciente que puede ser utilizado tanto para la investigación como para fines clínicos. Para los profesionales de las ciencias de la salud es importante conocer las características de los diferentes métodos de evaluación y análisis de la composición corporal, ya que cambios en ésta guardan relación directa con la salud y el riesgo de enfermedades. Actualmente, los métodos de análisis de la composición corporal son divididos en tres grupos, donde están el directo, los indirectos y los doblemente indirectos. El método directo es la disección de cadáveres. Entre los indirectos encontramos la tomografía axial computarizada, la resonancia magnética nuclear (RMN), la absorciometría dual de rayos X y la plestimografía; y en lo referente a los métodos doblemente indirectos destacan la antropometría y la impedancia bioeléctrica. Así, este trabajo tiene como objetivo revisar los métodos más utilizados para el análisis de la composición corporal, describiéndolos, analizando sus aplicaciones, ventajas y desventajas. Se llevó a cabo una búsqueda de artículos en las bases de datos PubMed, Web of Science, Scopus, SportDiscus y Google Académico. Las palabras usadas fueron, *body composition*, *body mass*, *body fat*, *muscle mass*, *fat mass*, *measurement*, *assessment* y *evaluation*, aisladas o combinadas, y sus respectivos sinónimos en castellano y portugués. Fueron encontrados 221 artículos, de los cuales fueron seleccionados 59 para esta revisión. Se concluye que los diferentes métodos para evaluar la composición corporal presentan ventajas y desventajas, que deben ser analizados cuando se elige el método a ser empleado, para intentar minimizar sus desventajas y potencializar sus ventajas.

**Key words:**

Composición corporal.  
Antropometría. DXA.  
Grasa corporal. Masa corporal.

## Methods of assessment of body composition: an updated review of description, application, advantages and disadvantages

**Summary**

The study of body composition is a topic of growing interest that can be used both for research and for clinical purposes. For professionals of health sciences is important to know the characteristics of the different methods of evaluation and analysis of body composition because, it changes are directly related to health and disease risk. Currently, methods of analysis of body composition are divided into three groups, which are direct, indirect and double indirect. The direct method is the dissection of cadavers. Indirect find computed tomography, magnetic resonance imaging, dual X-ray absorptiometry and plethysmography and in terms of the doubly indirect methods include anthropometry and bioelectrical impedance. Thus, this paper is aimed to review the most used for analysis of body composition by describing, analyzing their applications, advantages and disadvantages methods. Was conducted a search of article in databases PubMed, Web of Science, Scopus, SportDiscus and Google Scholar. The words used were, *body composition*, *body mass*, *body fat*, *muscle mass*, *fat mass*, *measurement*, *assessment* and *evaluation*, isolated or combined and their alternatives in Castilian and Portuguese. Were selected articles that were in English, Castilian and Portuguese. They were found 221 articles, of which 59 were selected for this review. It is concluded that the different methods for assessing body composition have advantages and disadvantages, which should be analyzed when choosing the method to be used to try to minimize the disadvantages and empower its advantages.

**Palabras clave:**

Body composition.  
Anthropometry. DXA. Body fat.  
Body mass.

Apoyos recibidos: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, por la beca de doctorado fornecida para Oswaldo Costa Moreira y a el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, por la beca de doctorado fornecida para Claudia Eliza Patrocínio de Oliveira. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG por la ayuda con los costes de publicación del presente trabajo de investigación.

**Correspondencia:** Oswaldo Costa Moreira

E-mail: osvaldo.moreira@ufv.br

## Introducción

El rápido cambio en el campo de las ciencias de la salud, hace que la formación inicial de los profesionales que están involucrados en este área se vuelva rápidamente obsoleta. Nuevos equipos y tecnologías, así como procedimientos y nuevas prácticas son temas que requieren constante actualización de conocimientos en las ciencias de la salud<sup>1</sup>.

El estudio de la composición corporal es un tema de interés creciente y que puede ser llevado a cabo tanto para fines de investigación (sirviendo como modelo para futuras aplicaciones prácticas), como para fines clínicos, para hacer un análisis de las condiciones clínicas de determinado sujeto o grupo de sujetos. En las dos vertientes, los profesionales del área de las ciencias de la salud deben tener conocimiento de los métodos, de sus técnicas, sus ventajas y desventajas para que pueda elegir cuál de las diferentes opciones es la más adecuada para sus necesidades.

Además, para los profesionales de las ciencias de la salud es importante conocer las características de los diferentes métodos de evaluación y análisis de la composición corporal, toda vez que cambios en ésta tienen relación directa con el estado de salud del sujeto y con el incremento o la disminución del riesgo de desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas<sup>2,3</sup>.

Así, el objetivo de este trabajo fue revisar los métodos más utilizados para la evaluación de la composición corporal, describiéndoles, analizando sus aplicaciones, ventajas y desventajas.

## Estrategia de búsqueda de los artículos

La búsqueda de artículos se llevó a cabo, en el mes de enero del 2015, en las bases de datos PubMed, Web of Science, Scopus, SportDiscus y Google Academico. Las palabras usadas fueron, *body composition*, *body mass*, *body fat*, *muscle mass*, *fat mass*, *measurement*, *assessment* y *evaluation*, aisladas o combinadas y sus respectivos sinónimos en castellano y portugués. Los criterios de inclusión de los artículos fueron los siguientes: que los estudios estuviesen en inglés, castellano o portugués, realizado en humanos, que fueron publicados en revistas periódicas indexadas en una de las bases, que los términos de búsqueda estuviesen en el título o resumen del artículo, sin restricción en la fecha de publicación y que fuera posible el acceso al artículo completo.

Después de descartar los artículos repetidos, fueron obtenidos 221 artículos que cumplieren los criterios establecidos de búsqueda. Fueron analizados por su resumen y en el caso de contener alguna información relevante o no clara, el estudio era seleccionado y capturado como texto completo para lectura. Artículos referenciados en los trabajos leídos, cuando fue necesario, también se consultaron en su versión original. En total, fueron seleccionados 59 artículos de acuerdo con los objetivos de este estudio. Aunque no se estableció la fecha, como criterio de inclusión de los estudios, se intentó buscar estudios más recientes (últimos 5 años) que aportasen informaciones más actualizadas sobre los métodos de evaluación de la composición corporal.

## Organización de la composición corporal

Los principales componentes del organismo humano están organizados en cinco niveles, jerarquizados según su connotación biológica, siendo estos el nivel atómico, el molecular, el celular, el tisular y el global<sup>4,5</sup>. En el nivel atómico, la masa corporal está compuesta básicamente por once elementos químicos, así la composición corporal podría dividirse en oxígeno, carbono, hidrógeno, nitrógeno, calcio, fósforo, potasio, azufre, sodio, cloruro y magnesio. Ya a nivel molecular, la composición corporal puede ser dividida en seis componentes: los lípidos, las proteínas, los carbohidratos, los minerales óseos, los minerales no óseos y el agua<sup>4,5</sup>.

La composición corporal en el nivel celular tiene tres compartimentos: las células, los líquidos extracelulares y los sólidos extracelulares. Por otro lado, el nivel tisular de la composición corporal está formado por cinco componentes: el tejido adiposo, tejido muscular esquelético, tejido óseo, órganos y vísceras y tejido residual. Por último, en el nivel global la composición corporal no es resultado del fraccionamiento del cuerpo, pero sí de las propiedades de éste como talla, índice masa corporal, superficie corporal y densidad corporal<sup>6,7</sup>.

Este interés en medir la composición corporal tuvo su inicio en el siglo XIX. Hasta el inicio del siglo XX, el análisis de la composición corporal era llevado a cabo a través de la disección de cadáveres, que actualmente es considerada el único método directo de evaluación de la composición corporal. Después, a mediados del siglo XX surgieron los métodos indirectos que establecen los principios utilizados hasta el día de hoy, el pesaje hidrostático (estándar para todos los otros métodos indirectos) y el modelo de dos componentes (masa grasa y masa libre de grasas) como base para los estudios de la composición corporal<sup>8</sup>.

Actualmente, los métodos de análisis de la composición corporal son divididos en tres grupos: el directo, los indirectos y los doblemente indirectos. El método directo tiene que ver con la disección de cadáveres y por más que cuente con una excelente fiabilidad, su aplicación y utilidad es muy limitada.

## Métodos indirectos de análisis de la composición corporal

Los métodos indirectos de evaluación de la composición corporal, no realizan la manipulación de los tejidos que son analizados, por lo que se realiza un análisis de la composición corporal *in vivo*. Estos métodos son validados a partir del método directo o de la densitometría y posibilitan medir/estimar los tejidos corporales. A pesar de tener alta fiabilidad, los métodos indirectos son poco accesibles, limitados y con alto coste financiero<sup>8</sup>.

En esta revisión, serán abordados los métodos de la tomografía axial computarizada (TAC), resonancia magnética nuclear (RMN), absorciometría dual de rayos X (DXA) y la plestimografía, debido a que son utilizadas en la investigación y en los medios clínicos.

## Tomografía axial computarizada

La TAC se basa en el uso de un escáner de emisión de rayos-X que traspasan al sujeto. Esta técnica fue la primera que se utilizó para determinar el área muscular de sección transversal (AST) y la grasa abdominal en 1979 y 1982 respectivamente. La intensidad de salida del rayo-X es monitorizada por una serie de detectores que codifican la señal para producir una imagen visual de 10 mm de grosor aproximadamente. Así pues, la transmisión de salida se utiliza para calcular el coeficiente de atenuación media a lo largo de la longitud del haz de rayos-X. Estos coeficientes se miden en unidades Hounsfield (UH)<sup>9</sup>.

Junto con la RMN, la TAC es considerada el método más preciso para medir la cantidad y distribución del músculo y del tejido adiposo en el cuerpo<sup>10</sup>. Así este método fue utilizado en estudios de Rantalainen *et al.*<sup>11</sup>, en niños y adultos jóvenes para medir los efectos de la actividad física, el sexo y la madurez en la sección transversal y distribución de material óseo del hueso de la tibia; de Friedenreich *et al.*<sup>12</sup>, en mujeres menopáusicas practicantes de ejercicio físico regular, para evaluar el tejido graso; y de Mueller *et al.*<sup>13</sup>, en un hombre muy mayor (más de 90 años de edad), corredor de maratón, para evaluar el tejido muscular y graso de sus piernas.

Una de las mayores ventajas de esta técnica es que permite medir la grasa infiltrada en el músculo esquelético. Además, tiene gran precisión ( $r^2=0,99$ ) y repetitividad (coeficiente de variación entre 1,2% y 4,3%)<sup>14</sup>, proporciona mayor información sobre los músculos, tejido adiposo y órganos que otros métodos como DXA o impedancia bioeléctrica<sup>14</sup>. Las desventajas de este método tienen que ver con la exposición del paciente a una elevada dosis de radiación y el coste de este instrumento<sup>14</sup>.

## Resonancia Magnética Nuclear

La RMN es una técnica que puede proporcionar imágenes de los componentes corporales y la composición química de los tejidos. Así mismo, puede utilizarse para conocer la composición corporal total o de un área concreta.

Esta técnica se basa en la interacción entre los núcleos atómicos del hidrógeno y los campos magnéticos generados y controlados por el dispositivo. Cuando un sujeto se coloca en el interior del imán de un aparato de RMN, los momentos magnéticos de los fotones tienden a alinearse con el campo del imán. Cuando un campo de radiofrecuencia pulsada se aplica a los tejidos del cuerpo, los protones del hidrógeno absorben la energía. Cuando la radiofrecuencia pulsada se apaga, los protones vuelven gradualmente a su estado anterior y liberan la energía absorbida en forma de otra señal de radio frecuencia pulsada que se utiliza para el desarrollo de las imágenes de resonancia magnética. Para incrementar el contraste entre el tejido adiposo y el músculo esquelético, los sistemas de captación de datos de las resonancias magnéticas están programados para conocer la densidad de los protones específicos y los tiempos de relajación de los diferentes tejidos. La técnica de adquisición de datos spin-echo utiliza los tiempos de relajación T1 de tejido adiposo y músculo esquelético para proporcionar imágenes de alta calidad. De manera específica, el tiempo de relajación T1 para el tejido adiposo es mucho más rápido que para el músculo esquelético<sup>15</sup>.

Algunos ejemplos de estudios que utilizaron la RMN para evaluar la composición corporal son de Honda *et al.*<sup>16</sup>, en mujeres atletas de élite, en que los autores evaluaron el efecto del tipo de ejercicio (alto o bajo impacto) en la geometría de la tibia; de Osawa *et al.*<sup>17</sup>, en hombres saludables, en que fue evaluado el efecto del entrenamiento interválico de alta intensidad en el AST de los músculos del tronco y muslo, bien como en la masa libre de grasa sin hueso; y de Souza-Teixeira *et al.*<sup>18</sup> en personas con esclerosis múltiple, para evaluar el efecto del entrenamiento de fuerza en la AST del cuádriceps.

Las ventajas de este método son la validez para medir la grasa visceral y la capacidad de establecer inferencias sin someter al sujeto a las radiaciones de la TAC<sup>19</sup>; su precisión es muy elevada, con un  $r^2=0,99$  y un coeficiente de variación entre 2,1 y 6,5%<sup>20</sup>; la consideración de este método como *gold standard* a la hora de medir la masa muscular o AST<sup>21</sup> y a la hora de medir la cantidad y el volumen de tejido adiposo abdominal<sup>20</sup>. Además, este método no emite radiación ionizante<sup>21</sup>.

Por otro lado, las posibles desventajas de este método son el elevado coste y la baja accesibilidad a esta técnica<sup>20</sup>; la realización manual de las mediciones y la necesidad de mucho material clínico<sup>19</sup>; y la definición de diferentes depósitos de tejido adiposo, que depende de la configuración del escáner de RMN<sup>20</sup>.

## Absorciometría dual de rayos X

La DXA es un instrumento utilizado para medir diferentes parámetros de la composición corporal como la masa muscular, la masa grasa y la densidad mineral ósea (DMO), pudiéndose detectar posibles enfermedades. En un principio la DXA fue concebida para medir la DMO, con las mejoras tecnológicas fue ampliando sus posibilidades de medición, siendo considerada, actualmente, como el método de referencia en el estudio de la composición corporal en investigaciones clínicas<sup>14</sup>.

El procedimiento por el cual la DXA estima la composición corporal se establece a través de la atenuación de fotones. Cuando los fotones atraviesan los tejidos de los sujetos son absorbidos o diseminados por el efecto fotoeléctrico y el efecto Compton. El efecto Compton consiste en el aumento de la longitud de onda de un fotón de rayos X cuando choca con un electrón libre y pierde parte de su energía. La frecuencia o la longitud de onda de la radiación dispersada dependen de la dirección de la dispersión. En general el efecto de atenuación de fotones desciende al aumentar la energía del fotón<sup>22</sup>.

El estudio de la composición corporal con DXA asume que existen tres tipos de componentes en el cuerpo con base en las propiedades de atenuación de los rayos X: masa grasa, masa muscular y la masa mineral esquelética. Los tejidos blandos por su alto contenido en agua y compuesto orgánico reducen de menor manera el flujo de fotones en comparación con el mineral del hueso y por ello, los píxeles que contienen hueso son mucho más fáciles de distinguir<sup>9,23</sup>.

Así la DXA permite separar primeramente al cuerpo en dos componentes principales: el tejido óseo y el tejido blando, pudiendo separarse el tejido blando en masa grasa y masa magra<sup>24</sup>, siendo un instrumento interesante para aquellas personas que tienen un mayor factor de riesgo de pérdida de masa muscular debido a enfermedades como la osteoporosis, cáncer o esclerosis múltiple.

Este método fue utilizado por Beraldo *et al.*<sup>25</sup>, en pacientes con HIV, para validar ecuaciones de predicción de la composición corporal; por Kim *et al.*<sup>26</sup>, en adultos coreanos (mayores de 18 años), para probar la relación entre medidas antropométricas e índices de grasa corporal; por Lima *et al.*<sup>27</sup>, en mujeres obesas que utilizan *Bypass* gástrico, para evaluar el efecto de la pérdida de peso en la DMO y comparar los resultados medidos por ultrasonido con los medidos por la DXA; por de Knecht *et al.*<sup>28</sup>, en recién nacidos, para evaluar la precisión de las medidas de la composición corporal; y por Rodrigues de Faria *et al.*<sup>29</sup>, en adolescentes con edad entre 10 y 19 años, para evaluar la masa grasa de los mismos y comparar las medidas de la DXA y la impedancia bioeléctrica.

Como cualquier instrumento de medición, la DXA tiene asociadas ventajas y desventajas. Las posibles ventajas de este método tienen que ver con ser una técnica no invasiva, fácilmente aplicable y con una radiación muy pequeña (<0,1  $\mu$ Gy), equiparable a la que se recibe durante un vuelo transoceánico o a un 10% de la sufrida en una radiografía de tórax<sup>23</sup>, así como con un tiempo de aplicación muy reducido<sup>9</sup> y que mide diferentes regiones corporales, como masa grasa, masa muscular y DMO, por separado<sup>22,23</sup>; presenta menor coste con respecto a los métodos considerados *gold standard* como son la RMN y la TAC<sup>30</sup>; está considerada como el nuevo *gold standard* para la medición de la composición corporal, ya que permite realizar mediciones de segmentos corporales en serie, posee una elevada precisión y fiabilidad ( $r^2=0,996$ ) y baja variabilidad de medida (coeficiente de variación menor que 4%) en relación a otros métodos de referencia<sup>9,31</sup>; además, permite el diagnóstico y el seguimiento de la osteoporosis<sup>14</sup>; estima la grasa abdominal<sup>19,31</sup>; es capaz de cuantificar la masa grasa con un coeficiente de variación del 2%<sup>20</sup>; y para la masa muscular de las extremidades inferiores tiene buenas correlaciones RMN y TAC<sup>31</sup>.

Las desventajas de este método tienen que ver con el tamaño de la zona de exploración, ya que en un principio se desarrolló para determinados grupos de edad (mujeres ancianas) y para focalizar la determinación en algunas áreas corporales, así como la dificultad de medición en personas con una altura mayor de 190 cm y una anchura, incluyendo sus brazos, de más de 58 cm<sup>32</sup>; presenta posibles diferencias entre aparatos de diferentes fabricantes cuando se evalúa una muestra<sup>23</sup>; aún no proporciona una buena fiabilidad para ser considerada *gold standard* en personas con un peso inferior a 40 kg<sup>33</sup>; aún no presenta una precisión muy grande para medir pequeños cambios de masa muscular, tras un periodo de entrenamiento<sup>34</sup>; es un aparato caro<sup>35</sup>; sus medidas de masa grasa pueden sufrir variabilidad por el estado de hidratación de una persona<sup>22</sup>, aunque existan otros autores que niegan esta influencia del estado de hidratación<sup>1</sup>; debe ser utilizada con cuidado para medir la masa grasa en niños<sup>36</sup>; y las actualizaciones de los *software* utilizados por los aparatos suelen incluir nuevos algoritmos para calcular la composición corporal lo que puede afectar a los cálculos de las mediciones en los individuos<sup>23</sup>.

## Pletismografía

En la pletismografía por desplazamiento de aire se estima la composición corporal indirectamente a través del volumen de aire que desplace dentro de una cámara cerrada<sup>37</sup>. En este método, es utilizada

la relación inversa entre presión y volumen, basada en la ley de Boyle para determinar el volumen corporal. Una vez que este volumen es determinado, es posible establecer la composición corporal por medio de los principios de la densitometría<sup>8</sup>.

Algunos trabajos de investigación utilizaron este método, como el estudio realizado por Harrod *et al.*<sup>38</sup>, en mujeres embarazadas y sus niños recién nacidos, para determinar la asociación entre el tabaquismo durante el embarazo y las alteraciones en la masa grasa, masa muscular y antropometría en los primeros cinco meses de vida; por Gianni *et al.*<sup>39</sup>, en niños en edad escolar, para determinar la influencia del nacimiento prematuro sobre la composición corporal de estos niños; por Bailey *et al.*<sup>40</sup>, en mujeres universitarias de 18 a 25 años, para evaluar la relación entre el número de pasos diarios sobre la adiposidad; por ten Haaf y Weijts<sup>41</sup>, en atletas adultos, para validar las ecuaciones de predicción de gasto energético en reposo existentes y desarrollar una nueva ecuación específica para atletas recreativos; y por Aguirre *et al.*<sup>42</sup>, en niños chilenos en edad prepuberal, para evaluar la validez de las estimaciones de la grasa corporal basada en mediciones de los pliegues cutáneos y análisis de impedancia bioeléctrica en comparación con un modelo de tres componentes, teniendo en cuenta las posibles diferencias por sexo y estado nutricional.

Las ventajas de este método son que posee una elevada precisión y fiabilidad de medida cuando es comparado con otros métodos, como por ejemplo el pesaje hidrostático ( $r^2=0,84-0,90$ )<sup>43</sup>; es un método rápido (duración de la evaluación entre 3 y 5 minutos) y fácil de aplicar<sup>8</sup>. Las desventajas tienen que ver con el mantenimiento de una temperatura constante para que la ley de Boyle pueda aplicarse y la presuposición de que la persona dentro del aparato respira normal durante las mediciones del volumen corporal<sup>37</sup>; en niños este método presenta una tendencia a sobreestimar la masa grasa en sujetos con mayor proporción de grasa corporal y subestimar en aquellos con menor proporción de grasa<sup>8</sup>.

## Métodos doblemente indirectos de análisis de la composición corporal

Los métodos doblemente indirectos de análisis de la composición corporal también son técnicas para medir la composición corporal *in vivo* y en general, fueron validados a partir de los métodos indirectos y por eso, presentan un margen de error muy grande, cuando son comparados con los métodos indirectos. Entretanto, en razón de los altos costes de los métodos indirectos y de la sofisticación metodológica, los métodos doblemente indirectos como la antropometría y la impedancia bioeléctrica ganan importancia debido a su sencillez, seguridad, facilidad de interpretación y bajas restricciones culturales<sup>8</sup>. Además, estos métodos presentan mejor aplicación práctica y menor coste financiero, lo que permite su empleo en investigaciones y estudios epidemiológicos. A continuación serán abordados los métodos de la antropometría y de la impedancia bioeléctrica.

## Impedancia bioeléctrica

La impedancia bioeléctrica se utiliza para el cálculo del agua total del cuerpo, masa grasa y masa libre de grasa. Este método se basa en el prin-

cipio de que la conductividad del agua del cuerpo varía en los diferentes compartimentos, así este método mide la impedancia a una pequeña corriente eléctrica aplicada a medida que pasa a través del cuerpo<sup>44</sup>.

La impedancia varía de acuerdo con el tejido que se está evaluando, siendo que la masa libre de grasa presenta una buena conductibilidad eléctrica por poseer elevada concentración de agua y electrólitos, mientras la masa grasa no es un buen conductor eléctrico, lo que permite decir que la impedancia es directamente proporcional a la cantidad de grasa corporal<sup>8</sup>.

Los valores de impedancia bioeléctrica se convierten en valores que reflejan el agua corporal total o líquido extracelular para posteriormente, a través de ecuaciones, conocer la masa muscular<sup>9,14</sup>.

La fiabilidad y precisión de este método puede sufrir influencia de varios factores como el tipo de instrumento, puntos de colocación de los electrodos, nivel de hidratación, alimentación, ciclo menstrual, temperatura del ambiente y la ecuación de predicción utilizada y en general es cercana a  $r^2=0,84$  en comparación con la DXA<sup>44,45</sup>.

De esta manera, algunos cuidados deben ser observados antes de la realización de la impedancia bioeléctrica, para evitar la producción de errores, como no comer o beber cuatro horas antes de la prueba, no hacer ejercicios 12 horas antes, orinar 30 minutos antes, no ingerir alcohol 24 horas antes y no haber usado de diuréticos en los últimos siete días<sup>8</sup>.

Ejemplos de investigaciones que utilizaron este método de evaluación de la composición corporal son los estudios realizados por Madsen *et al.*<sup>46</sup>, en hombres jóvenes saludables de la India, para verificar los efectos de un programa de ciclismo sobre la composición corporal de estos sujetos; por Saladino<sup>47</sup>, en pacientes con disturbios alimentarios, para evaluar los cambios en la composición corporal de estos durante el tratamiento; por Camina-Martín *et al.*<sup>48</sup>, en hombres mayores con y sin demencia, para comparar la antropometría y la impedancia bioeléctrica y para verificar la relación entre la demencia y la composición corporal; y por Esco *et al.*<sup>49</sup>, en atletas universitarias del sexo femenino, para evaluar la fiabilidad de este método para medir la composición corporal en los distintos segmentos corporales.

Las principales ventajas de este método son su carácter no invasivo, que el aparato es relativamente barato, la evaluación presenta un bajo coste, es de fácil aplicación y es un método muy rápido<sup>10</sup>. Entretanto, presenta desventajas como limitaciones de aplicación en pacientes que presentan retención de líquidos, edemas periféricos, problemas hidrostáticos o que haga uso de medicación diurética y en deportistas no es un método adecuado ya que tiene un error del 3% lo cual es demasiado grande como para dar las instrucciones adecuadas del deportista de su estado de salud. Además de esto, un ligero cambio en el lugar de los electrodos puede producir una variabilidad de un 2% de los resultados en diferentes días<sup>10</sup>.

## Antropometría

La antropometría consiste en la evaluación de las diferentes dimensiones corporales y en la composición global del cuerpo, siendo utilizada para diagnosticar el estado nutricional de poblaciones y la presencia o ausencia de factores de riesgo cardiovascular, como la obesidad o la cantidad de grasa abdominal<sup>8,50</sup>.

De las innumerables técnicas utilizadas en la antropometría, el índice de masa corporal (IMC) es el más empleado y aporta informaciones acerca del estado nutricional del sujeto<sup>10</sup>. La relación entre circunferencia de la cintura y de la cadera también es otra técnica antropométrica muy empleada y recomendada por la Organización Mundial de la Salud como un buen predictor de la obesidad central en estudios poblacionales<sup>51</sup>. Estas dos técnicas antropométricas tienen especial importancia pues valores elevados en el IMC o de la razón cintura-cadera están asociados con una mayor incidencia de mortalidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares<sup>52</sup>.

Estas técnicas fueron utilizadas en estudios de Costa-Moreira *et al.*<sup>50</sup> en profesores universitarios de Brasil, para evaluar la prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular; por Sales y Moreira<sup>53</sup>, en niños entre 11 y 14 años de edad, para evaluar la influencia de la participación en clases de educación física sobre la capacidad cardiorrespiratoria y la composición corporal; por Maia-Ribeiro<sup>54</sup>, en personas mayores de la ciudad de Maués/AM, para evaluar la asociación de factores relacionados con la aptitud funcional y el riesgo de caída; y por Oliveira *et al.*<sup>55</sup>, en mujeres sedentarias, para evaluar el efecto de ocho semanas de práctica de gimnasia localizada sobre la composición corporal de las mismas.

Otra técnica antropométrica ampliamente empleada es la medición de diferentes pliegues cutáneos. Esta técnica se basa en el hecho de que la mayoría de la grasa corporal está en el tejido subcutáneo. Aunque, como la distribución de grasa subcutánea no es uniforme, es decir, hay regiones con más y otras con menos cantidad de grasa en diferentes partes del cuerpo, las medidas de pliegues cutáneos deben ser realizadas en diferentes partes del cuerpo<sup>8</sup>.

A partir de la medida de los pliegues cutáneos es posible estimar la densidad corporal utilizando algunas ecuaciones matemáticas, desarrolladas para diferentes grupos poblacionales con características diversas. Con los valores calculados de la densidad corporal, es posible estimar el la masa grasa y la masa magra corporal<sup>1,4,10</sup>.

El nivel de precisión de la medida de la composición corporal por el método de los pliegues cutáneos depende del tipo y calibración del compás utilizado, del nivel de entrenamiento, precisión y técnica del evaluador y de la precisión en la identificación de los puntos anatómicos que deben ser medidos<sup>8</sup>. No obstante, este método asume algunos principios que pueden llevar a un error, como considerar que la compresión ejercida por el instrumento o evaluador sobre el pliegue es siempre la misma; inferir la cantidad de MG visceral a partir de la subcutánea; o considerar que el patrón de MG es constante a lo largo de los tejidos<sup>14</sup>.

Así, considerando estos factores y teniendo en cuenta que cada ecuación utilizada para la estimación de la densidad corporal, masa grasa o masa magra contiene un error, en relación a su *gold standard* de comparación, que puede sumarse a errores como la falta de precisión del evaluador o del compás, es posible que este método presente baja fiabilidad y elevada variación<sup>1,10</sup>.

En este sentido, este método es más recomendable para estudios poblacionales, donde los errores, que pudieran cometerse, son diluidos en un número mayor de personas. Cuando es utilizado en muestras más reducidas, es más aconsejable la utilización del sumatorio de pliegues, sin el uso de ninguna ecuación predictiva, para intentar evitar errores e incrementar la precisión y la consistencia de las medidas obtenidas por este método<sup>8,14</sup>.

Es uno de los métodos más empleados en investigaciones de campo, como por ejemplo el deporte<sup>56,57</sup>, siempre y cuando no es posible tener un aparato más sofisticado de evaluación de la composición corporal en el ambiente donde van a realizarse las pruebas o el desplazamiento del grupo de evaluados hasta un laboratorio sea algo difícil<sup>10,14</sup>.

Algunos estudios que utilizaron esta técnica fueron los de Alvear-Órdenes *et al.*<sup>56</sup>, en jugadores de rugby, para evaluar en porcentaje de grasa; de Fernández-Gonzalo *et al.*<sup>57</sup>, en 30 futbolistas varones prepúberes, para describir la evolución del rendimiento fisiológico y de la técnica en estos jóvenes; de Pereira *et al.*<sup>58</sup>, en estudiantes de una pequeña ciudad de Brasil, para evaluar el nivel de aptitud física de los mismos; y por Moreira *et al.*<sup>59</sup>, en profesores universitarios, para verificar la asociación de factores de riesgo cardiovascular con el incremento de la presión arterial.

Las ventajas del método de antropometría son el bajo coste de su aplicación, cuando es comparado con otros métodos, la facilidad de

su aplicación, su sencillez, la facilidad de transporte lo que permite su utilización en investigaciones de campo, además de estar validado para una amplia franja poblacional que engloba desde niños, hasta mayores, pasando por atletas y personas enfermas<sup>8,10</sup>. Por otro lado, este método presenta desventaja como un gran margen de error, entre 3 y 11%<sup>10</sup>; la necesidad de ser realizado por personas altamente entrenadas para que la medida sea fiable; la posibilidad de producir resultados dispares cuando las mediciones son realizadas por personas diferentes o con instrumentos diferentes; la necesidad de determinación exacta de los puntos anatómicos para que se produzca comparaciones entre resultados; la variabilidad individual en la técnica de sujetar la piel, que puede producir resultados distintos; la dificultad de aplicación en personas obesas o con grandes cantidades de grasa; y so no recomendación en situaciones de deshidratación o retención de líquidos<sup>8,10,14</sup>.

**Tabla 1. Comparación de los métodos de evaluación de la composición corporal.**

Método	Accesibilidad	Especificidad	Precisión	Reproducibilidad	Radiación
TAC	Muy baja	Muy alta	Muy alta	CV 1,2-4,3%	Si (6-10mSv)
RMN	Muy baja	Muy alta	Muy alta	CV 2,1-6,5%	No
DXA	Baja	Baja	Alta	CV <1-4%	Si (0,003-0,06mSv)
Plestimografía	Baja	Media	Alta	CV adultos 1,7-4,5% Niños 25% Niñas 44%	No
Impedancia Bioeléctrica	Alta	Baja	Media	CV 4-9.8%	No
Antropometría	Muy alta	Baja	Baja	Muy variable	No

TAC: tomografía axial computarizada; RMN: resonancia magnética nuclear; DXA: doble absorciometría de rayos X; CV: coeficiente de variación.

**Tabla 2. Ventajas y desventajas de los métodos de evaluación de la composición corporal.**

Método	Ventajas	Desventajas
TAC	Gran precisión y repetitividad	Exposición a altas radiaciones y material caro
RMN	Gran precisión y repetitividad para el tejido adiposo y muscular en todo el cuerpo y zonas específicas	Caro, realización manual de las mediciones, variación dependiente de la configuración del escáner
DXA	Fácil de usar, baja radiación, muy preciso para extremidades y grasa	Caro y se requiere de un radiólogo especializado para ser manejado
Plestimografía	Precisión y rapidez	Material caro y poco preciso en algunas enfermedades
Impedancia bioeléctrica	Barato, portátil, simple, seguro y rápido	Para población específica, mala precisión en individuos y grupos
Antropometría	Barato, no invasivo	Baja reproducibilidad, sensibilidad y especificidad

TAC: tomografía axial computarizada; RMN: resonancia magnética nuclear; DXA: doble absorciometría de rayos X.

## Consideraciones finales

A través de la revisión realizada fue posible observar que existen varios métodos para medir la composición corporal y cada uno de ellos presenta ventajas y desventajas. Así, el profesional de la salud que fuera a realizar la medida de la composición corporal deberá elegir entre los diversos métodos, de acuerdo con su objetivo, siempre teniendo en cuenta los costes de aplicación del método, el nivel de entrenamiento del evaluador, el tiempo disponible para ejecución de la medida, la fiabilidad del método para lo que se desea medir y los posibles riesgos de aplicación de este método para los evaluados, para intentar minimizar las desventajas del método elegido y potencializar sus ventajas.

De manera general, se recomendarían los métodos indirectos (TAC, RMN, DXA y plestografía) para estudios con muestras más pequeñas y que puedan ser evaluadas en laboratorio, por presentaren mayor fiabilidad y menor variabilidad que los métodos doblemente indirectos. A su vez, estos últimos, serían más indicados en estudios poblacionales, como los estudios epidemiológicos, y en estudios donde la muestra se queda imposibilitada de desplazarse hasta un laboratorio de evaluación de la composición corporal. De esta manera, la menor fiabilidad y mayor variabilidad de los métodos doblemente indirectos serían compensadas por un mayor número de personas evaluadas, que podría promover la dilución de los posibles errores, y por los bajos costes de aplicación de los mismos.

No obstante, se sugiere que las informaciones presentes en este estudio puedan ser aplicadas en el campo práctico ya sea para intentar establecer diagnósticos de enfermedades relacionadas con la obesidad, para elegir el mejor método para evaluar la salud, monitorizar los efectos del entrenamiento sobre componentes de la composición corporal indicadores del estado de salud, o aún para acompañar la progresión de determinadas enfermedades que puedan afectar la composición corporal o que sean por ella afectadas, y para ayudar a elegir mejores herramientas que permitan el estudio del perfil de composición corporal de deportistas de diferentes modalidades deportivas, en virtud de la relación de esta con el rendimiento competitivo.

## Bibliografía

- Moran JM, Lavado-García JM, Pedrera-Zamorano JD. Methods for nurses to measure body composition. *Rev Lat Am Enfermagem*. 2011;19(4):1033-8.
- American College of Sports Medicine. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(7):1334-59.
- American College of Sports Medicine. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(2):459-71.
- Porbén SS, Borrás AL. Composición corporal. *Acta Medica*. 2003;11(1):26-37.
- Wang ZM, Pierson RN, Jr., Heymsfield SB. The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. *Am J Clin Nutr*. 1992;56:19-28.
- Heymsfield SB, Pietrobelli A, Wang Z, Saris WH. The end of body composition methodology research? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005;8(6):591-4.
- Shah AH, Bilal R. Body Composition, its Significance and Models for Assessment. *Pakistan Journal of Nutrition*. 2009;8(2):198-202.
- Sant'anna MSL, Priore SE, Franceschini SCC. Métodos de avaliação da composição corporal em crianças. *Rev Paul Pediatr*. 2009;27(3):315-21.
- Lustgarten MS, Fielding RA. Assessment of analytical methods used to measure changes in body composition in the elderly and recommendations for their use in phase II clinical trials. *J Nutr Health Aging*. 2011;15(5):368-75.
- Ayvaz G, Çimen AR. Methods for Body Composition Analysis in Adults. *The Open Obesity Journal*. 2011;3:62-9.
- Rantalainen T, Weeks BK, Nogueira RC, Beck BR. Effects of bone-specific physical activity, gender and maturity on tibial cross-sectional bone material distribution; a cross-sectional pQCT comparison of children and young adults aged 5-29 years. *Bone*. 2015;72:101-8.
- Friedenreich CM, MacLaughlin S, Neilson HK, Stanczyk FZ, Yasui Y, Duha A, et al. Study design and methods for the Breast Cancer and Exercise Trial in Alberta (BETA). *BMC Cancer*. 2014;14(1):919.
- Mueller SM, Knechtle B, Knechtle P, Toigo M. Physiological alterations after a marathon in the first 90-year-old male finisher: case study. *Springerplus*. 2014;3:608.
- Thibault R, Genton L, Pichard C. Body composition: why, when and for who? *Clin Nutr*. 2012;31(4):435-47.
- Lukaski H. Sarcopenia: assessment of muscle mass. *J Nutr*. 1997;127(5 Suppl):994S-997S.
- Honda A, Matsumoto M, Kato T, Umemura Y. Exercise characteristics influence femoral cross-sectional geometry: a magnetic resonance imaging study in elite female athletes. *Osteoporos Int*. 2015;26(3):1093-8.
- Osawa Y, Azuma K, Tabata S, Katsukawa F, Ishida H, Oguma Y, et al. Effects of 16-week high-intensity interval training using upper and lower body ergometers on aerobic fitness and morphological changes in healthy men: a preliminary study. *Open Access J Sports Med*. 2014;5:257-65.
- Souza-Teixeira F, Costilla S, Ayán C, García-López D, González-Gallego J, de Paz JA. Effects of resistance training in multiple sclerosis. *Int J Sports Med*. 2009;30(4):245-50.
- Kaul S, Rothney MP, Peters DM, Wacker WK, Davis CE, Shapiro MD, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry for quantification of visceral fat. *Obesity (Silver Spring)*. 2012;20(6):1313-8.
- Shuster A, Patlas M, Pinthus JH, Mourtzakis M. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br J Radiol*. 2012;85(1009):1-10.
- Zhao X, Wang Z, Zhang J, Hua J, He W, Zhu S. Estimation of total body skeletal muscle mass in Chinese adults: prediction model by dual-energy X-ray absorptiometry. *PLoS One*. 2013;8(1):e53561.
- Pietrobelli A, Formica C, Wang Z, Heymsfield SB. Dual-energy X-ray absorptiometry body composition model: review of physical concepts. *Am J Physiol*. 1996;271(6 Pt 1):E941-51.
- Plank LD. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2005;8(3):305-9.
- Wang Z, Heymsfield SB, Chen Z, Zhu S, Pierson RN. Estimation of percentage body fat by dual-energy x-ray absorptiometry: evaluation by in vivo human elemental composition. *Phys Med Biol*. 2010;55(9):2619-35.
- Beraldo RA, Vassimon HS, Navarro AM, Foss-Freitas MC. Development of predictive equations for total and segmental body fat in HIV-seropositive patients. *Nutrition*. 2015;31(1):127-31.
- Kim SG, Ko KD, Hwang IC, Suh HS, Kay S, Caterson I, et al. Relationship between indices of obesity obtained by anthropometry and dual-energy X-ray absorptiometry: The Fourth and Fifth Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES IV and V, 2008-2011). *Obes Res Clin Pract*. 2014. pii: S1871-403X(14)00769-8.
- Lima TP, Nicoletti CF, Marchini JS, Junior WS, Nonino CB. Effect of Weight Loss on Bone Mineral Density Determined by Ultrasound of Phalanges in Obese Women After Roux-en-y Gastric Bypass: Conflicting Results With Dual-Energy X-ray Absorptiometry. *J Clin Densitom*. 2014;17(4):473-8.
- de Knecht VE, Carlsen EM, Bech Jensen JE, Lade Rasmussen AM, Pryds O. DXA Performance in a Pediatric Population: Precision of Body Composition Measurements in Healthy Term-Born Infants Using Dual-Energy X-ray Absorptiometry. *J Clin Densitom*. 2015;18(1):117-23.
- Rodrigues de Faria E, Rocha de Faria F, Siqueira Santos Gonçalves V, Castro Franceschini SD, Gouveia Peluzio MD, et al. Prediction of body fat in adolescents: comparison of two electric bio impedance devices with dual-energy x-ray absorptiometry. *Nutr Hosp*. 2014;30(n06):1270-8.
- Chen Z, Wang Z, Lohman T, Heymsfield SB, Outwater E, Nicholas JS, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry is a valid tool for assessing skeletal muscle mass in older women. *J Nutr*. 2007;137(12):2775-80.
- Glickman SG1, Marn CS, Supiano MA, Dengel DR. Validity and reliability of dual-energy X-ray absorptiometry for the assessment of abdominal adiposity. *J Appl Physiol* (1985). 2004;97(2):509-14.

32. Nana A, Slater GJ, Hopkins WG, Burke LM. Techniques for undertaking dual-energy X-ray absorptiometry whole-body scans to estimate body composition in tall and/or broad subjects. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2012;22(5):313-22.
33. Shypailo RJ, Butte NF, Ellis KJ. DXA: can it be used as a criterion reference for body fat measurements in children? *Obesity (Silver Spring).* 2008;16(2):457-62.
34. Delmonico MJ, Kostek MC, Johns J, Hurley BF, Conway JM. Can dual energy X-ray absorptiometry provide a valid assessment of changes in thigh muscle mass with strength training in older adults? *Eur J Clin Nutr.* 2008;62(12):1372-8.
35. Company J, Ball S. Body Composition Comparison: Bioelectric Impedance Analysis with Dual-Energy X-Ray Absorptiometry in Adult Athletes. *Measurement in Physical Education and Exercise Science* 2010;14(3):186-201.
36. Silva DR, Ribeiro AS, Pavão FH, Ronque ER, Avelar A, Silva AM, et al. Validity of the methods to assess body fat in children and adolescents using multi-compartment models as the reference method: a systematic review. *Rev Assoc Med Bras.* 2013;59(5):475-86.
37. Fields DA, Goran MI, McCrory MA. Body-composition assessment via air-displacement plethysmography in adults and children: a review. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(3):453-67.
38. Harrod CS, Fingerlin TE, Chasan-Taber L, Reynolds RM, Glueck DH, Dabelea D. Exposure to prenatal smoking and early-life body composition: The healthy start study. *Obesity (Silver Spring).* 2015;23(1):234-41.
39. Gianni ML, Roggero P, Piemontese P, Morlacchi L, Bracco B, Taroni F, et al. Boys who are born preterm show a relative lack of fat-free mass at 5 years of age compared to their peers. *Acta Paediatr.* 2015;104(3):e119-23.
40. Bailey BW, Borup P, Tucker L, LeCheminant J, Allen M, Hebbert W. Steps measured by pedometry and the relationship to adiposity in college women. *J Phys Act Health.* 2014;11(6):1225-32.
41. ten Haaf T, Weijs PJ. Resting energy expenditure prediction in recreational athletes of 18-35 years: confirmation of Cunningham equation and an improved weight-based alternative. *PLoS One.* 2014;9(9):e108460.
42. Aguirre CA, Salazar GD, Lopez de Romaña DV, Kain JA, Corvalán CL, Uauy RE. Evaluation of simple body composition methods: assessment of validity in prepubertal Chilean children. *Eur J Clin Nutr.* 2015;69(2):269-73.
43. Demerath EW, Guo SS, Chumlea WC, Towne B, Roche AF, Siervogel RM. Comparison of percent body fat estimates using air displacement plethysmography and hydrodensitometry in adults and children. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26:389-97.
44. Lee SY, Gallagher D. Assessment methods in human body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008;11:566-72.
45. Mattsson S, Thomas BJ. Development of methods for body composition studies. *Phys Med Biol.* 2006; 51: R203-28.
46. Madsen C, Mogensen P, Thomas N, Christensen DL, Bygbjerg IC, Mohan V, et al. Effects of an outdoor bicycle-based intervention in healthy rural Indian men with normal and low birth weight. *J Dev Orig Health Dis.* 2015;6(1):27-37.
47. Saladino CF. The efficacy of Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) in monitoring body composition changes during treatment of restrictive eating disorder patients. *J Eat Disord.* 2014;4;2(1):34.
48. Camina Martín MA, de Mateo Silleras B, Nescolarde Selva L, Barrera Ortega S, Domínguez Rodríguez L, Redondo Del Río MP. Bioimpedance vector analysis and conventional bioimpedance to assess body composition in older adults with dementia. *Nutrition.* 2015;31(1):155-9.
49. Esco MR, Snarr RL, Leatherwood MD, Chamberlain N, Redding M, Flatt AA, et al. Comparison of total and segmental body composition using DXA and multi-frequency bioimpedance in collegiate female athletes. *J Strength Cond Res.* 2014 Oct 28. [Epub ahead of print].
50. Costa Moreira O, Rodrigues de Oliveira RA, Patrocínio Oliveira CE, Doimo LA, dos Santos Amorim PR, Camaroti Laterza M, et al. Risk factors for cardiovascular disease in professors from a public university. *Invest Educ Enferm.* 2014;32(2):280-90.
51. World Health Organization. Prevention and Control of Noncommunicable Diseases: Guidelines for Primary Health Care in Low Resource Settings. Geneva: World Health Organization; 2012.
52. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39(8):1423-34.
53. Sales WF, Moreira OC. Capacidade cardiorrespiratória e composição corporal de estudantes participantes e não participantes de aulas de educação física. *Brazilian Journal of Biomechanics.* 2012;6(3):153-58.
54. Maia Ribeiro EA, Ribeiro EE, Viegas K, Teixeira F, dos Santos Montagner GF, Mota KM, et al. Functional, balance and health determinants of falls in a free living community Amazon riparian elderly. *Arch Gerontol Geriatr.* 2013;56(2):350-7.
55. Oliveira CEP, Moreira OC, Pereira LS, Doimo LA. Efeito de oito semanas de treinamento de ginástica localizada sobre a composição corporal de mulheres sedentárias. *R Bras Cie Mov.* 2013;21(3):134-40.
56. Alvear-Ordenes I, García-López D, De Paz JA, González-Gallego J. Sweat lactate, ammonia, and urea in rugby players. *Int J Sports Med.* 2005;26(8):632-7.
57. Fernandez-Gonzalo R, De Souza-Teixeira F, Bresciani G, García-López D, Hernández-Murúa JA, Jiménez-Jiménez R, et al. Comparison of technical and physiological characteristics of prepubescent soccer players of different ages. *J Strength Cond Res.* 2010;24(7):1790-8.
58. Pereira ES, Moreira OC, Brito ISS, Matos DG, Mazini Filho ML, Oliveira CEP. Aptidão física relacionada à saúde em escolares de município de pequeno porte do interior do Brasil. *Rev Educ Fis.* 2014;25(3):459-68.
59. Moreira OC, Oliveira RAR, Andrade Neto F, Amorim W, Oliveira CEP, Doimo LA, et al. Associação entre risco cardiovascular e hipertensão arterial em professores universitários. *Rev Bras Educ Fis Esporte.* 2011;25(3):395-404.

## **13.2. Anexo II**





## Revisión

# Métodos de evaluación de la masa muscular: una revisión sistemática de ensayos controlados aleatorios

Oswaldo Costa Moreira<sup>1,2</sup>, Claudia Eliza Patrocínio de Oliveira<sup>1,3</sup>, Ramón Candia-Luján<sup>4</sup>, Ena Monserrat Romero-Pérez<sup>5</sup> y José Antonio de Paz Fernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Biomedicina. Universidad de León, León (España). <sup>2</sup>Instituto de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Federal de Viçosa, Campus Florestal, Florestal, Minas Gerais (Brasil). <sup>3</sup>Departamento de Educación Física. Universidad Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais (Brasil). <sup>4</sup>Facultad de Ciencias de la Cultura Física. Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua (México). <sup>5</sup>Departamento de Ciencias del Deporte y de la Actividad Física. Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora (México).

## Resumen

**Introducción:** en los últimos años las investigaciones sobre la masa muscular han cobrado popularidad por su relación con la salud. Así, la medición precisa de la masa muscular puede tener aplicación clínica, ya que puede interferir en el diagnóstico y prescripción del tratamiento medicamentoso o no medicamentoso.

**Objetivo:** realizar una revisión sistemática de los métodos más utilizados para la evaluación de la masa muscular en ensayos controlados aleatorios, con sus ventajas y desventajas.

**Método:** se llevó a cabo una búsqueda en las bases de datos Pubmed, Web of Science y Scopus, con las palabras muscle mass, measurement, assessment y evaluation, combinadas de esta manera: “muscle mass” AND (measurement OR assessment OR evaluation).

**Resultados:** 23 estudios fueron recuperados y analizados, todos ellos en inglés. El 69,56% utilizaron solamente un método para la cuantificación de la masa muscular; el 69,57% utilizaron la doble absorciometría de rayos X (DXA); en el 45,46% el tipo de medida utilizado fue la masa corporal total libre de grasa; y el 51,61% eligieron el cuerpo total como sitio de medida.

**Conclusiones:** en los ensayos controlados aleatorios analizados la mayor parte utilizó apenas un método de evaluación, siendo la DXA el método más empleado, la masa corporal total libre de grasa el tipo de medida más utilizado y el cuerpo total el sitio de medida más común.

(Nutr Hosp. 2015;32:977-985)

DOI:10.3305/nh.2015.32.3.9322

Palabras clave: Composición corporal. Antropometría. Absorciometría. Imágenes por resonancia magnética. Escáneres de tomografía.

## METHODS OF EVALUATION OF MUSCLE MASS: A SYSTEMATIC REVIEW OF RANDOMIZED CONTROLLED TRIALS

### Abstract

**Introduction:** in recent years, research about muscle mass has gained popularity for their relationship to health. Thus precise measurement of muscle mass may have clinical application once may interfere with the diagnosis and prescription drug or drug treatment.

**Objective:** to conduct a systematic review of the methods most used for evaluation of muscle mass in randomized controlled trials, with its advantages and disadvantages.

**Methods:** we conducted a search of the data bases PubMed, Web of Science and Scopus, with words “muscle mass”, “measurement”, “assessment” and “evaluation”, combined in this way: “muscle mass” AND (assessment OR measurement OR evaluation).

**Results:** 23 studies were recovered and analyzed, all in English. 69.56% only used a method for quantification of muscle mass; 69.57% used dual X-ray absorptiometry (DXA); in 45.46% the type of measure used was the body lean mass; and 51.61% chose the whole body as a site of measurement.

**Conclusions:** in the randomized controlled trials analyzed the majority used just one method of assessment, with the DXA being the method most used, the body lean mass the measurement type most used and total body the most common site of measure.

(Nutr Hosp. 2015;32:977-985)

DOI:10.3305/nh.2015.32.3.9322

Key words: Body composition. Anthropometry. Absorptiometry. Magnetic resonance imaging. Tomography scanners.

**Correspondencia:** Oswaldo Costa Moreira.  
Avenida Mariano Andrés, 141, Esc A, 1º DCH.  
24008 León, España.  
E-mail: osvaldo.moreira@ufv.br

Recibido: 28-V-2015.  
Aceptado: 18-VI-2015.

## Abreviaturas

BIA: Impedancia bioeléctrica.  
CT: Tomografía computarizada.  
DMO: Densidad mineral ósea.  
DXA: Doble absorciometría de rayos X.  
GH: Hormona de crecimiento.  
RMN: Resonancia magnética nuclear.

## Introducción

Las reservas de masa muscular pueden reflejar el estado nutricional, las reservas corporales de proteínas y la funcionalidad en enfermedades relacionadas con la desnutrición, cáncer, caquexia o sarcopenia, por eso ha despertado interés creciente de los grupos de investigación<sup>1-5</sup>. No obstante, la pérdida de masa muscular también puede ir acompañada de una reducción en la función física, llevando la persona a un umbral patológico o agravando su estado de salud, cuando la persona ya se encuentra con alguna enfermedad<sup>6</sup>.

Por lo tanto, la medición precisa de masa muscular puede tener aplicación clínica una vez que puede interferir en el diagnóstico y prescripción de tratamiento medicamentoso o no medicamentoso<sup>7</sup>. Viene de ahí la importancia de conocer los diferentes métodos de evaluación de la masa muscular, una vez que, cambios en esta tienen relación directa con el estado de salud del sujeto y con el incremento o la disminución del riesgo de desarrollo de enfermedades crónico degenerativas<sup>8,9</sup>.

Así, el objetivo de este trabajo fue revisar los métodos más utilizados para evaluación de la masa muscular en ensayos controlados aleatorios, con sus ventajas y desventajas.

## Estrategia de búsqueda de los artículos

La búsqueda de artículos se llevó a cabo, en el mes de enero del 2015, en las bases de datos PubMed, Web of Knowledge y Scopus. Las palabras usadas fueron, muscle mass, measurement, assessment y evaluation, combinadas como a continuación se detalla: “muscle mass” AND (measurement OR assessment OR evaluation). Los criterios de inclusión de los artículos fueron los siguientes: que fueran estudios de ensayos controlados aleatorios, realizado en humanos, que fueron publicados en revistas periódicas, en inglés, que los términos de búsqueda estuviesen en el título o resumen del artículo, sin restricción en la fecha de publicación y que fuera posible acceso al artículo completo.

Los pasos seguidos para la selección de los artículos, según Candia-Luján, De Paz-Fernandez y Costa-Moreira<sup>10</sup> fueron: después de remover los artículos repetidos, los artículos que cumplieren los criterios establecidos de búsqueda tuvieron su resumen analizado y, en el caso de identificar que en el resumen

la masa muscular fuera una de las variables cuantificadas, el estudio era seleccionado y capturado como texto completo para lectura. El análisis de los artículos completos se realizó según los criterios sugeridos por Ferreira-González, Urrutía y Alonso-Coello<sup>11</sup> para revisiones sistemáticas y metaanálisis, para posterior selección de los estudios que hicieron parte de este trabajo de revisión. La figura 1 ilustra el proceso de selección de los estudios.

## Resultados

En la presente revisión fueron analizados 23 estudios del año 1998 al año 2014, con obsolescencia (medida por la mediana) de 7 años (índice de Burton Kebler) y un índice de Price (porcentaje de artículos con edad inferior a 5 años) de 48%<sup>12</sup>. Para la cuantificación de la masa muscular se utilizó uno (69,56%) o dos métodos (30,44%) en los estudios analizados. El principal método utilizado fue la doble absorciometría de rayos X (DXA) (69,57%), y en el resto de las investigaciones se utilizó la tomografía computarizada (CT) (30,44%), impedancia bioeléctrica (BIA) (13,04%), biopsia muscular (8,69%), resonancia magnética nuclear (RMN) (4,35%) y ultra sonido (4,35%). En relación al tipo de medida, un 45,46% de los estudios evaluaron la masa corporal total libre de grasa, un 33,33% evaluaron el área de sección transversal y un 21,21% evaluaron la masa libre de grasa regional. Los sitios de medida más comunes en los estudios analizados fueron el cuerpo total (51,61%), el cuádriceps (19,35%) y los miembros inferiores (9,68%), como se observa en la tabla I.

## Discusión

De todos los estudios analizados, en la mayoría se utilizó un método para evaluar la masa muscular, pero, casi una tercera parte de los estudios empleó dos o más métodos. Una posible explicación para este hallazgo es que la composición corporal está organizada en cinco niveles distintos, jerarquizados según su connotación biológica, siendo estos, el nivel atómico, el molecular, el celular, el tisular y el global<sup>31</sup>, y debido a que los diferentes métodos de evaluación de la masa muscular poseen mayor o menor fiabilidad y precisión dependiendo de lo que se desea medir y del tipo y lugar de medición<sup>32</sup>. Así, que para incrementar la fiabilidad y precisión de las medidas, es necesario utilizar más métodos que complementen las información obtenida.

De los métodos analizados el más empleado fue la DXA. En un principio la DXA fue concebida para medir la densidad mineral ósea (DMO), con las mejores tecnológicas se ampliaron sus posibilidades de medición, siendo considerada, actualmente, como el método de referencia en el estudio de la composición corporal en investigaciones clínicas<sup>32</sup>.

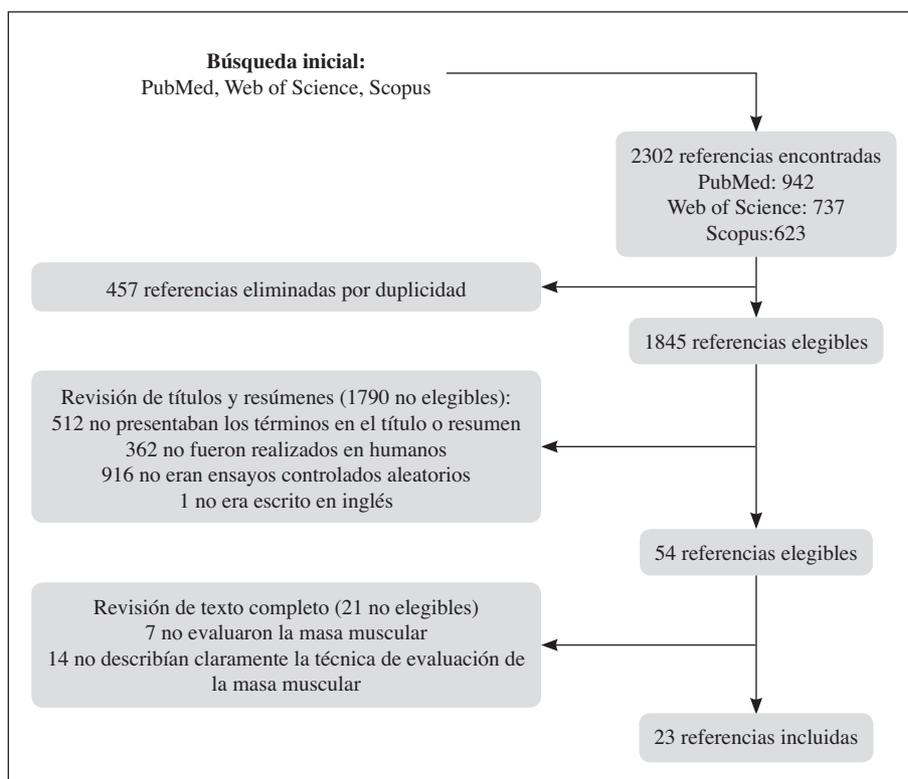


Fig. 1.—Diagrama de flujo del proceso de selección de los estudios.

Entre las principales ventajas que pueden justificar la creciente utilización de este método en los ensayos controlados aleatorios está ser una técnica no invasiva, fácilmente aplicable y con un nivel de radiación muy pequeño ( $<0.1 \mu\text{Gy}$ ), equiparable a la que se recibe durante un vuelo transoceánico<sup>33</sup>, un tiempo de aplicación muy reducido<sup>34</sup> y que mide diferentes componentes por separado<sup>33</sup>; presenta menor coste con respecto a los métodos considerados *gold standard* como son la RMN y la CT<sup>35</sup>. Por todas estas ventajas está considerada como el nuevo *gold standard* para la medición de la composición corporal, ya que permite realizar mediciones de segmentos corporales en serie<sup>34</sup>; y para la masa muscular de las extremidades inferiores tiene buenas correlaciones con la RMN y la CT<sup>35</sup>.

Por otro lado, la DXA también presenta algunas desventajas que pueden limitar su utilización en algunas situaciones y/o grupos poblacionales. Estas desventajas pueden ser el tamaño de la zona de exploración, ya que en un principio este método se desarrolló para determinados grupos de edad (mujeres ancianas) y para focalizar algunas áreas corporales, así como dificultad de medición en personas con una altura mayor de 190 cm y una anchura, incluyendo sus brazos, de más de 58cm<sup>36</sup>; posibles diferencias entre aparatos de diferentes fabricantes cuando se evalúa una muestra<sup>33</sup>, lo que puede implicar en valores de medida distintas; baja fiabilidad en personas con un peso inferior a 40 kg y por lo tanto debe ser utilizado con cuidado en niños<sup>37</sup>; aún no presenta una alta precisión para medir pequeños cambios de masa muscular, tras un periodo de en-

trenamiento<sup>38</sup>; y las actualizaciones de los softwares utilizados por los aparatos suelen incluir nuevos algoritmos para calcular la composición corporal lo que puede afectar a las mediciones de los individuos<sup>33</sup>.

Otro método que fue ampliamente utilizado en los ensayos controlados aleatorios es la CT. Junto con la RMN, la CT es considerada el método más preciso para medir la cantidad y distribución del músculo y del tejido adiposo en el cuerpo<sup>39</sup>. La CT mide el área de sección transversal del músculo, es decir, es un método utilizado para medir la masa muscular de un determinado sitio en un músculo o grupo muscular específico<sup>3,17</sup>.

Este método presenta ventaja como la alta fiabilidad, precisión y repetitividad para medir el área de sección transversal del músculo. Además permite medir la grasa infiltrada entre el músculo esquelético<sup>32</sup>, mientras sus desventajas están relacionadas con la alta dosis de radiación al que el paciente está expuesto y los elevados costes de adquisición y utilización de este aparato. Es posible que estas desventajas hagan que este método no sea tan empleado como la DXA en los estudios analizados.

La BIA fue un método que también estuvo presente en los ensayos controlados aleatorios que fueron analizados. Este método se basa en el principio de que la conductividad del agua del cuerpo varía en diferentes compartimentos, así este método mide la impedancia a una pequeña corriente eléctrica aplicada a medida que pasa a través del cuerpo y así hace una estimación de la masa muscular<sup>40</sup>. Por estar validado a partir de

**Tabla I**

Resumen de los estudios de ensayos controlados aleatorios en los que se evaluó la masa muscular

Autor(año)	Participantes				Medida		
	n	Edad (años)	Sexo	Característica	Instrumento	Local	Tipo/unidad
Alemán-Mateo <i>et al.</i> (2012) <sup>13</sup>	40	76±5,4	M y F	Mayores con sarcopenia	DXA	Cuerpo total, miembros superiores, miembros inferiores y músculo esquelético apendicular total	Masa magra total y regional/Kg
Antoun <i>et al.</i> (2010) <sup>5</sup>	80	-	-	Pacientes con cáncer renal avanzado	CT	3ª vértebra lumbar	Área de sección transversal/cm <sup>2</sup>
Brooks <i>et al.</i> (2007) <sup>14</sup>	62	66±1,5	M y F	Sujetos hispánicos mayores de 55 años	DXA y Biopsia muscular	Cuerpo total, miembros inferiores y vastus lateralis	Masa magra total y regional/Kg y área de sección transversal/μm <sup>2</sup>
Daneryd <i>et al.</i> (1998) <sup>15</sup>	108	-	M y F	Pacientes con cáncer gastrointestinal	DXA	Cuerpo total	Masa corporal magra/Kg
Dong <i>et al.</i> (2011) <sup>16</sup>	32	43±13	M y F	Pacientes en hemodiálisis crónica	DXA e impedancia bioeléctrica	Cuerpo total y miembros inferiores	Masa corporal magra/Kg y masa muscular esquelética/Kg
Fragala <i>et al.</i> (2014) <sup>1</sup>	25	70,5±6,2	M y F	Mayores saludables	DXA	Cuerpo total	Masa corporal magra/Kg
Fricke <i>et al.</i> (2008) <sup>17</sup>	30	54,5±4,1	F	Mujeres blancas post menopáusicas saludables	CT	Antebrazo y pierna	Área de sección transversal/mm <sup>2</sup>
Giannoulis <i>et al.</i> (2008) <sup>18</sup>	21	70,2±0,6	M	Mayores saludables	DXA y CT	Cuerpo total y cuádriceps femoralis	Masa corporal magra/Kg y área de sección transversal/cm <sup>2</sup>
Gibney <i>et al.</i> (1999) <sup>19</sup>	33	-	M y F	Pacientes con deficiencia de hormona de crecimiento	CT	Cuádriceps femoralis	Área de sección transversal/cm <sup>2</sup>
Greulich <i>et al.</i> (2014) <sup>2</sup>	61	65,83±8,59	-	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Ultrasonido	Rectus femoralis	Área de sección transversal/cm <sup>2</sup>
Hoyos <i>et al.</i> (2012) <sup>20</sup>	81	49±12	M	Varones obesos con apnea obstructiva del sueño	DXA	Cuerpo total	Masa corporal magra/Kg
Lønbro <i>et al.</i> (2013) <sup>4</sup>	30	-	-	Pacientes con cáncer de cuello u o cabeza	DXA	Cuerpo total	Masa corporal magra/Kg
Lustgarten <i>et al.</i> (2014) <sup>3</sup>	73	77,7±3,9	M y F	Mayores con movilidad reducida	CT y DXA	Cuádriceps femoralis y cuerpo total	Área de sección transversal/cm <sup>2</sup> y índice de masa libre de grasa/Kg/m <sup>2</sup>
Marcus <i>et al.</i> (2009) <sup>21</sup>	16	56,1±6,4	F	Mujeres post menopáusicas obesas o con sobrepeso	DXA	Cuerpo total	Masa magra total y regional/Kg

**Tabla I (cont.)**

Resumen de los estudios de ensayos controlados aleatorios en los que se evaluó la masa muscular

Autor(año)	Participantes				Medida		
	n	Edad (años)	Sexo	Característica	Instrumento	Local	Tipo/unidad
Mavros <i>et al.</i> (2013) <sup>22</sup>	103	-	-	Mayores con diabetes tipo 2	Impedancia bioeléctrica y CT	Cuerpo total	Masa muscular esquelética/Kg y área de sección transversal/cm <sup>2</sup>
Mueller <i>et al.</i> (2009) <sup>23</sup>	62	80,6±3,5	M y F	Mayores saludables y con medicación estable	DXA	Cuádriceps femoralis	Masa corporal magra/Kg
Myers <i>et al.</i> (2007) <sup>24</sup>	25	1,25±0,75	-	Niños con síndrome de Prader-Willi	DXA	Cuerpo total	Masa corporal magra/Kg
Savastano <i>et al.</i> (2009) <sup>25</sup>	24	36,8±11,7	F	Mujeres obesas sometidas a cirugía bariátrica	DXA	Cuerpo total	Masa magra total y regional/Kg
Suetta <i>et al.</i> (2008) <sup>26</sup>	36	71(61-86)	M y F	Mayores con osteoartritis en la cadera	Biopsia muscular	Vastus lateralis	Área de sección transversal/μm <sup>2</sup>
Verhoeven <i>et al.</i> (2009) <sup>27</sup>	30	71±4	M	Mayores saludables	CT y DXA	Cuádriceps femoralis y cuerpo total	Área de sección transversal/cm <sup>2</sup> y masa magra total y regional/Kg
Villani <i>et al.</i> (2013) <sup>28</sup>	79	82,7±5,9	M y F	Mayores con fractura de cadera	DXA e impedancia bioeléctrica	Cuerpo total	Masa magra total y regional/Kg
Villareal y Holloszy (2006) <sup>29</sup>	64	71,5±4	M y F	Mayores saludables	RMN	Cuádriceps femoralis	Volumen/cm <sup>3</sup>
Wilson <i>et al.</i> (2014) <sup>30</sup>	24	21.6±0,5	M	Jóvenes con experiencia en entrenamiento de fuerza	DXA	Cuerpo total	Masa corporal magra/Kg

M: masculino; F: femenino; CT: tomografía computarizada; RMN: resonancia magnética nuclear; DXA: doble absorciometría de rayos X.

un método indirecto, la BIA es considerada un método doblemente indirecto con un margen de error más grande que los métodos indirectos.

La fiabilidad y precisión de este método puede tener influencia de varios factores como el tipo de instrumento, puntos de colocación de los electrodos, nivel de hidratación, alimentación, ciclo menstrual, temperatura del ambiente y la ecuación de predicción utilizada<sup>40</sup>. Así, la BIA presenta como limitaciones la aplicación en pacientes que presentan retención de líquidos, edemas periféricos, problemas hidrostáticos o que haga uso de medicación diurética y en deportistas, ya que tiene un error del 3% lo cual es demasiado grande como para dar las instrucciones adecuadas del deportista de su estado de salud. Además de esto, un ligero cambio en el lugar de los electrodos puede producir una variabilidad de un 2% de los resultados en diferentes días<sup>39</sup>.

Por otro lado, este método ha sido ampliamente difundido por presentar ventajas como su carácter no invasivo, aparato relativamente barato, la evaluación presenta un bajo coste, su fácil aplicación y su rapidez<sup>39</sup>, siendo un buen método para ser utilizado en grupos poblacionales más grandes y/o en estudios epidemiológicos<sup>41</sup>.

Otro método que también estuvo presente en los estudios analizados fue la biopsia muscular, la cual consiste en extraer tejidos y células de un músculo específico y examinarlos con un microscopio<sup>42</sup>. Con este método, además de poder estudiar los cambios morfológicos en la fibra muscular, es posible obtener informaciones sobre la tipología de fibras que componen el músculo, medir diferentes índices de capilaridad de la fibra muscular, actividad enzimática en la fibra, estudiar los substratos presentes en la fibra bajo determinadas condiciones y establecer características

de elementos involucrados en la ultra-estructura del músculo<sup>43</sup>.

Por otro lado, la biopsia muscular no suele ser muy común que sea usado para medir la masa muscular (hipertrofia de la fibra) porque presenta algunas limitaciones y/o desventajas frente a otros métodos. Como ejemplo de estas desventajas tiene el hecho de ser una técnica invasiva, de exponer al sujeto a la posibilidad de infección en el área que sufrió la biopsia, moretones, molestias y/o sangrado prolongado en dicha área<sup>42,43</sup>. Además, las principales limitaciones de la biopsia muscular están relacionadas a la necesidad de estar bien indicada, de acuerdo con el objetivo del estudio, ser bien ejecutada para evitar algún problema en el sitio de ejecución y ser bien procesada, para que no genere errores en el resultado de la medida<sup>44</sup>. Así, es posible que estas limitaciones y/o desventajas hagan con que este método no sea tan empleado en los investigaciones donde la masa muscular (hipertrofia o atrofia muscular) sea el objeto de estudio.

La RMN también fue otro método empleado en los ensayos controlados aleatorios. Esta técnica puede proporcionar imágenes de los componentes corporales y la composición química de los tejidos, además de proporcionar la composición corporal total o de un área concreta.

Por más que este método presente ventajas como la validez y precisión muy elevadas de sus medidas de masa muscular o el área de sección transversal, sin someter al sujeto a las radiaciones de la CT<sup>45,46</sup>, su utilización en los estudios no fue muy alta, quizás por el hecho de presentar también desventajas como el elevado coste y la baja accesibilidad del aparato a grupos de investigación, la definición manual de las mediciones y la necesidad de mucho material clínico<sup>45,46</sup>. Estas desventajas limitan la utilización de este método en muestras más grandes, y por eso es posible que su empleo en los estudios analizados tenga sido más bajo.

Otro método que también estuvo presente, aunque solamente en un estudio, fue el ultrasonido. Este método está ganando espacio como una alternativa para cuantificar el grosor muscular de un músculo o grupo muscular específico<sup>47</sup>. El ultrasonido indirecto, a diferencia de la DXA, la RMN y la CT, y posee ventajas de ser portátil, tener bajo coste, es de fácil utilización<sup>48</sup>. Además, el ultrasonido también puede proporcionar información sobre la arquitectura muscular incluyendo ángulo de penetración (el ángulo en el que se colocan las fibras musculares) y estructuras fasciculares<sup>47</sup>.

Sin embargo, la baja utilización de este método en los estudios analizados puede deberse a algunas limitaciones de esta técnica, como estar limitada a medir típicamente el espesor del músculo, con el grupo muscular del cuádriceps siendo el más comúnmente medido, no estar muy difundido en estudios epidemiológico poblacionales y no ser muy indicado en personas que poseen determinadas enfermedades<sup>49,50</sup>. Además, es posible que mediciones en diferentes grupos musculares obtenidas por ultrasonido no sean tan precisas

como las hechas con CT y RMN, que son modalidades que incluyen un mayor campo de visión y pueden proporcionar escaneos automáticos consecutivos que cuantifican varios grupos musculares<sup>47,49</sup>.

En relación al tipo de medida, casi un 50% de los estudios evaluó la masa corporal total libre de grasa. La opción por ese tipo de medida puede tener relación con la utilización de la masa corporal total libre de grasa como un indicador de salud, ya que incluye la masa muscular, que reconocidamente está relacionada con la regulación metabólica y la aptitud funcional<sup>18,9,15,20</sup>. Así, este tipo de medida gana importancia en virtud del papel fundamental de los músculos en la locomoción, la producción de fuerza, la eliminación de glucosa<sup>6</sup>, y regulación metabólica<sup>20</sup>, ya que la pérdida o bajo nivel de la masa muscular aumenta el riesgo de enfermedades crónicas tales como el síndrome metabólico, la diabetes tipo II y enfermedades cardiovasculares<sup>51,52</sup>, así como las caídas y capacidad para realizar actividades de la vida diaria<sup>53,54</sup>, disminuyendo la calidad de vida de las personas afectadas. De esta manera, la medir la masa corporal total libre de grasa, especialmente la masa muscular total, sirve como un indicador/predicador del rendimiento funcional y de la salud en general, lo que torna esta medida de suma importancia.

Una tercera parte de los estudios eligió el área de sección transversal como el indicador de masa muscular evaluado. Este tipo de medida guarda relación especialmente con los niveles de fuerza<sup>55</sup>, donde sujetos entrenados demuestran un índice de producción de fuerza por área de sección transversal mucho más alto que sus congéneres no entrenados<sup>2,17</sup>. Así, en estudios donde el objetivo tiene alguna relación con la fuerza y masa muscular, el área de sección transversal parece ser un tipo de medida más adecuado.

Por otro lado, la masa libre de grasa regional, es utilizada cuando la investigación tiene como objetivo medir cambios en regiones o sitios específicos, por ejemplo, en una investigación en la cual el objetivo fue evaluar el efecto de la suplementación proteica sobre la masa muscular apendicular en mayores<sup>13</sup>, o en una investigación que evaluó el efecto del tratamiento con la hormona del crecimiento (GH) como manera de prevenir la pérdida de masa muscular en mujeres obesas tras cirugía de reducción de estómago<sup>25</sup>. Además, la masa libre de grasa apendicular, especialmente del tren inferior, también puede estar asociada a la capacidad funcional, ya que la pérdida de masa muscular en los miembros inferiores se relaciona a disminución de la autonomía funcional y a la capacidad de deambulación en mayores<sup>28</sup>. Por lo que este tipo de medida parece ser lo más adecuado cuando la investigación tiene como objetivo evaluar los miembros inferiores y/o superiores y su relación con algún tratamiento o estado de salud.

En relación al sitio de medida, poco más de 50% de los estudios analizados eligieron el cuerpo total para evaluar la masa muscular (o masa corporal libre de grasa). Como se mencionó anteriormente, la masa

muscular total tiene una fuerte relación con la salud y la condición funcional de las personas, así como con la regulación de algunas funciones metabólicas<sup>8,9</sup>. Así, es posible entender porque el cuerpo total fue el sitio más elegido para realización de la medida de la masa muscular. Hoyos *et al.*<sup>20</sup> realizaron un estudio con el objetivo de evaluar la composición corporal y los efectos cardiometabólicos del tratamiento con testosterona en hombres obesos con apnea obstructiva del sueño grave. En este estudio, el incremento de la masa muscular total, la mejora del perfil hematológico y de los efectos respiratorios estuvo asociada al final del tratamiento con testosterona. De la misma manera, el estudio llevado a cabo por Myers *et al.*<sup>24</sup>, que tuvo como objetivo determinar los efectos de la terapia de GH en la composición corporal y desarrollo psicomotor en niños con síndrome de Prader-Willi, también presentó mayor masa muscular total, desarrollo cognitivo y desarrollo de lenguaje asociados al final del tratamiento. De esta manera, la elección del cuerpo total como sitio de medida de la masa muscular, parece ser adecuado de forma más general a estudios que relacionen la masa muscular a indicadores de salud y/o desarrollo físico.

Los cuádriceps y los miembros inferiores fueron los dos sitios de medida que más estuvieron presentes en los estudios evaluados, después del cuerpo total. La medida de la masa muscular en los cuádriceps y/o miembros inferiores está asociada, generalmente, a la fuerza y al estado funcional de las personas<sup>8,9,53,54</sup>. En el estudio realizado por Mueller *et al.*<sup>23</sup>, que tuvo como objetivo de explorar el potencial del ejercicio excéntrico continuo para retardar la pérdida funcional y de la masa muscular relacionada con la edad. En este estudio, los autores observaron incremento de masa muscular en el cuádriceps y mejoras de la capacidad funcional de los miembros inferiores con el entrenamiento continuo excéntrico. Otro estudio realizado por Suetta *et al.* (2008), con el objetivo de comparar diferentes regímenes de entrenamiento con respecto a la fuerza muscular, el tamaño de la fibra muscular, la arquitectura muscular y la funcionalidad en pacientes postoperatorios de edad avanzada. Los autores observaron incremento de la masa muscular en el muslo, mejoras de fuerza y capacidad funcional en los pacientes sometidos al entrenamiento de fuerza. Así, parece que, la opción por medir la masa muscular en el cuádriceps y/o miembros inferiores es más adecuado en estudios cuya intención sea verificar incrementos de fuerza y/o capacidad funcional.

### Consideraciones finales

A través de la búsqueda realizada puede observarse que existen varios métodos para evaluar la masa muscular en los ensayos controlados aleatorios, de los cuales, la mayor parte utilizó un método de evaluación, siendo la DXA el método más empleado, la masa corporal total libre de grasa el tipo de medida más utiliza-

do y el cuerpo total el sitio de medida más común en los estudios analizados.

### Agradecimientos

A la Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, por la beca de doctorado fornecida para Osvaldo Costa Moreira y a el Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, por la beca de doctorado fornecida para Claudia Eliza Patrocínio de Oliveira.

A la Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG por la ayuda con los costes de publicación del presente trabajo de investigación.

### Referencias

1. Fragala MS, Fukuda DH, Stout JR, Townsend JR, Emerson NS, Boone CH, Beyer KS, Oliveira LP, Hoffman JR. Muscle quality index improves with resistance exercise training in older adults. *Exp Gerontol* 2014;53:1-6.
2. Greulich T, Kehr K, Nell C, Koepke J, Haid D, Koehler U, Koehler K, Filipovic S, Kenn K, Vogelmeier C, Koczulla AR. A randomized clinical trial to assess the influence of a three months training program (gym-based individualized vs. calisthenics-based non-individualized) in COPD-patients. *Respir Res* 2014 25;15:36.
3. Lustgarten MS, Price LL, Chale A, Phillips EM, Fielding RA. Branched chain amino acids are associated with muscle mass in functionally limited older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2014;69(6):717-24.
4. Lønbro S, Dalgas U, Primdahl H, Overgaard J, Overgaard K. Feasibility and efficacy of progressive resistance training and dietary supplements in radiotherapy treated head and neck cancer patients--the DAHANCA 25A study. *Acta Oncol* 2013;52(2):310-8.
5. Antoun S, Birdsell L, Sawyer MB, Venner P, Escudier B, Baracos VE. Association of skeletal muscle wasting with treatment with sorafenib in patients with advanced renal cell carcinoma: results from a placebo-controlled study. *J Clin Oncol* 2010;28(6):1054-60.
6. Bosaeus I, Wilcox G, Rothenberg E, Strauss BJ. Skeletal muscle mass in hospitalized elderly patients: comparison of measurements by single-frequency BIA and DXA. *Clin Nutr* 2014;33(3):426-31.
7. Yu S, Visvanathan T, Field J, Ward LC, Chapman I, Adams R, Wittert G, Visvanathan R. Lean body mass: the development and validation of prediction equations in healthy adults. *BMC Pharmacol Toxicol* 2013;14:53.
8. American College of Sports Medicine. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. *Med Sci Sports Exerc* 2009;41(2):459-71.
9. American College of Sports Medicine. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: guidance for prescribing exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2011;43(7):1334-59.
10. Candia-Luján R, De Paz Fernández JA, Costa Moreira O. Are antioxidant supplements effective in reducing delayed onset muscle soreness? A systematic review. *Nutr Hosp* 2015;31:32-45.
11. Ferreira González I, Urrutia G, Alonso-Coello P. Systematic reviews and meta-analysis: scientific rationale and interpretation. *Rev Esp Cardiol* 2011;64(8):688-96.
12. Vásquez-Morales A, Wanden-Berghe C, Sanz-Valero J. Exercise and nutritional supplements; effects of combined

- use in people over 65 years; a systematic review. *Nutr Hosp* 2013;28(4):1077-84.
13. Alemán-Mateo H, Macías L, Esparza-Romero J, Astiazaran-García H, Blancas AL. Physiological effects beyond the significant gain in muscle mass in sarcopenic elderly men: evidence from a randomized clinical trial using a protein-rich food. *Clin Interv Aging* 2012;7:225-34.
  14. Brooks N, Layne JE, Gordon PL, Roubenoff R, Nelson ME, Castaneda-Sceppa C. Strength training improves muscle quality and insulin sensitivity in Hispanic older adults with type 2 diabetes. *Int J Med Sci* 2006;4(1):19-27.
  15. Daneryd P, Svanberg E, Körner U, Lindholm E, Sandström R, Brevinge H, Pettersson C, Bosaeus I, Lundholm K. Protection of metabolic and exercise capacity in unselected weight-losing cancer patients following treatment with recombinant erythropoietin: a randomized prospective study. *Cancer Res* 1998;58(23):5374-9.
  16. Dong J, Sundell MB, Pupim LB, Wu P, Shintani A, Ikizler TA. The effect of resistance exercise to augment long-term benefits of intradialytic oral nutritional supplementation in chronic hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2011;21(2):149-59.
  17. Fricke O, Baecker N, Heer M, Tutlewski B, Schoenau E. The effect of L-arginine administration on muscle force and power in postmenopausal women. *Clin Physiol Funct Imaging* 2008;28(5):307-11.
  18. Giannoulis MG, Jackson N, Shojaee-Moradie F, Nair KS, Sonksen PH, Martin FC, Umpleby AM. The effects of growth hormone and/or testosterone on whole body protein kinetics and skeletal muscle gene expression in healthy elderly men: a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93(8):3066-74.
  19. Gibney J, Wallace JD, Spinks T, Schnorr L, Ranicar A, Cuneo RC, Lockhart S, Burnand KG, Salomon F, Sonksen PH, Russell-Jones D. The effects of 10 years of recombinant human growth hormone (GH) in adult GH-deficient patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(8):2596-602.
  20. Hoyos CM, Yee BJ, Phillips CL, Machan EA, Grunstein RR, Liu PY. Body compositional and cardiometabolic effects of testosterone therapy in obese men with severe obstructive sleep apnoea: a randomised placebo-controlled trial. *Eur J Endocrinol* 2012;167(4):531-41.
  21. Marcus RL, Lastayo PC, Dibble LE, Hill L, McClain DA. Increased strength and physical performance with eccentric training in women with impaired glucose tolerance: a pilot study. *J Womens Health (Larchmt)* 2009;18(2):253-60.
  22. Mavros Y, Kay S, Anderberg KA, Baker MK, Wang Y, Zhao R, Meiklejohn J, Climstein M, O'Sullivan A, de Vos N, Baune BT, Blair SN, Simar D, Rooney K, Singh N, Fiatarone Singh MA. Changes in insulin resistance and HbA1c are related to exercise-mediated changes in body composition in older adults with type 2 diabetes: interim outcomes from the GREAT2DO trial. *Diabetes Care* 2013;36(8):2372-9.
  23. Mueller M, Breil FA, Vogt M, Steiner R, Lippuner K, Popp A, Klossner S, Hoppeler H, Däpp C. Different response to eccentric and concentric training in older men and women. *Eur J Appl Physiol* 2009;107(2):145-53.
  24. Myers SE, Whitman BY, Carrel AL, Moerchen V, Bekx MT, Allen DB. Two years of growth hormone therapy in young children with Prader-Willi syndrome: physical and neurodevelopmental benefits. *Am J Med Genet A* 2007;143A(5):443-8.
  25. Savastano S, Di Somma C, Angrisani L, Orio F, Longobardi S, Lombardi G, Colao A. Growth hormone treatment prevents loss of lean mass after bariatric surgery in morbidly obese patients: results of a pilot, open, prospective, randomized, controlled study. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(3):817-26.
  26. Suetta C, Andersen JL, Dalgas U, Berget J, Koskinen S, Aagaard P, Magnusson SP, Kjaer M. Resistance training induces qualitative changes in muscle morphology, muscle architecture, and muscle function in elderly postoperative patients. *J Appl Physiol (1985)* 2008;105(1):180-6.
  27. Verhoeven S, Vanschoonbeek K, Verdijk LB, Koopman R, Wodzig WK, Dendale P, van Loon LJ. Long-term leucine supplementation does not increase muscle mass or strength in healthy elderly men. *Am J Clin Nutr* 2009;89(5):1468-75.
  28. Villani AM, Miller M, Cameron ID, Kurlle S, Whitehead C, Crotty M. Body composition in older community-dwelling adults with hip fracture: portable field methods validated by dual-energy X-ray absorptiometry. *Br J Nutr* 2013;109(7):1219-29.
  29. Villareal DT, Holloszy JO. DHEA enhances effects of weight training on muscle mass and strength in elderly women and men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;291(5):E1003-8.
  30. Wilson JM, Lowery RP, Joy JM, Andersen JC, Wilson SM, Stout JR, Duncan N, Fuller JC, Baier SM, Naimo MA, Rathmacher J. The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Appl Physiol* 2014;114(6):1217-27.
  31. Wang ZM, Pierson RN, Jr., Heymsfield SB. The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 19-28.
  32. Thibault, R; Genton, L; Pichard, C. Body composition: why, when and for who? *Clin Nutr* 2012;31(4):435-447.
  33. Plank LD. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2005;8(3):305-9.
  34. Lustgarten MS, Fielding RA. Assessment of analytical methods used to measure changes in body composition in the elderly and recommendations for their use in phase II clinical trials. *J Nutr Health Aging* 2011;15(5):368-375.
  35. Chen Z, Wang Z, Lohman T, Heymsfield SB, Outwater E, Nicholas JS, Bassford T, LaCroix A, Sherrill D, Punnyanitya M, Wu G, Going S. Dual-energy X-ray absorptiometry is a valid tool for assessing skeletal muscle mass in older women. *J Nutr* 2007;137(12):2775-80.
  36. Nana A, Slater GJ, Hopkins WG, Burke LM. Techniques for undertaking dual-energy X-ray absorptiometry whole-body scans to estimate body composition in tall and/or broad subjects. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2012;22(5):313-22.
  37. Silva DR, Ribeiro AS, Pavao FH, Ronque ER, Avelar A, Silva AM, Cyrino ES. Validity of the methods to assess body fat in children and adolescents using multi-compartment models as the reference method: a systematic review. *Rev Assoc Med Bras* 2013;59(5):475-86.
  38. Delmonico MJ, Kostek MC, Johns J, Hurley BF, Conway JM. Can dual energy X-ray absorptiometry provide a valid assessment of changes in thigh muscle mass with strength training in older adults? *Eur J Clin Nutr* 2008;62(12):1372-8.
  39. Ayvaz G, Çimen AR. Methods for Body Composition Analysis in Adults. *The Open Obesity Journal* 2011;3:62-69
  40. Lee SY, Gallagher D. Assessment methods in human body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008; 11: 566-72.
  41. Sant'anna MSL, Priore SE, Franceschini SCC. Métodos de avaliação da composição corporal em crianças. *Rev Paul Pediatr* 2009;27(3):315-21.
  42. Jaradeh SS, Ho H. Muscle, nerve, and skin biopsy. *Neurol Clin* 2004;22(3):539-61.
  43. Lacomis D. The utility of muscle biopsy. *Curr Neurol Neurosci Rep* 2004;4(1):81-6.
  44. Ridaura-Sanz C. Biopsia muscular. *Acta Pediatr Mex* 2008;29(6):347-54.
  45. Kaul S, Rothney MP, Peters DM, Wacker WK, Davis CE, Shapiro MD, Ergun DL. Dual-energy X-ray absorptiometry for quantification of visceral fat. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20(6):1313-8.
  46. Shuster A, Patlas M, Pinthus JH, Mourtzakis M. The clinical importance of visceral adiposity: a critical review of methods for visceral adipose tissue analysis. *Br J Radiol* 2012;85(1009):1-10.
  47. Mourtzakis M, Wischmeyer P. Bedside ultrasound measurement of skeletal muscle. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2014;17(5):389-95.
  48. Zaidman CM, Wu JS, Wilder S, Darras BT, Rutkove SB. Minimal training is required to reliably perform quantitative ultrasound of muscle. *Muscle Nerve* 2014;50(1):124-8.

49. Kwah LK, Pinto RZ, Diong J, Herbert RD. Reliability and validity of ultrasound measurements of muscle fascicle length and pennation in humans: a systematic review. *J Appl Physiol (1985)* 2013;114(6):761-9.
50. Walker FO, Cartwright MS, Wiesler ER, Caress J. Ultrasound of nerve and muscle. *Clin Neurophysiol* 2004;115(3):495-507.
51. Migliaccio S, Greco EA, Aversa A, Lenzi A. Age-associated (cardio)metabolic diseases and cross-talk between adipose tissue and skeleton: endocrine aspects. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2014;20(1):25-38.
52. Kim JH, Cho JJ, Park YS. Relationship between Sarcopenic Obesity and Cardiovascular Disease Risk as Estimated by the Framingham Risk Score. *J Korean Med Sci* 2015;30(3):264-71.
53. Da Silva Alexandre T, de Oliveira Duarte YA, Ferreira Santos JL, Wong R, Lebrão ML. Sarcopenia according to the european working group on sarcopenia in older people (EWGSOP) versus Dynapenia as a risk factor for disability in the elderly. *J Nutr Health Aging* 2014;18(5):547-53.
54. Velázquez Alva Mdel C, Irigoyen Camacho ME, Delgadillo Velázquez J, Lazarevich I. The relationship between sarcopenia, undernutrition, physical mobility and basic activities of daily living in a group of elderly women of Mexico City. *Nutr Hosp* 2013;28(2):514-21.
55. Jones EJ, Bishop PA, Woods AK, Green JM. Cross-sectional area and muscular strength: a brief review. *Sports Med* 2008;38(12):987-94.
56. Mattsson S, Thomas BJ. Development of methods for body composition studies. *Phys Med Biol* 2006; 51: R203-28.



## **13.3. Anexo III**



## Review Article

# Mitochondrial Function and Mitophagy in the Elderly: Effects of Exercise

Oswaldo C. Moreira,<sup>1,2</sup> Brisamar Estébanez,<sup>1</sup> Susana Martínez-Florez,<sup>1</sup> José A. de Paz,<sup>1</sup> María J. Cuevas,<sup>1</sup> and Javier González-Gallego<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Biomedicine (IBIOMED), University of León, León, Spain*

<sup>2</sup>*Institute of Biological Sciences and Health, Federal University of Viçosa-Campus Florestal, Florestal, MG, Brazil*

Correspondence should be addressed to María J. Cuevas; [mjcueg@unileon.es](mailto:mjcueg@unileon.es) and Javier González-Gallego; [jgonga@unileon.es](mailto:jgonga@unileon.es)

Received 16 March 2017; Revised 4 June 2017; Accepted 6 July 2017; Published 16 August 2017

Academic Editor: Orlando Laitano

Copyright © 2017 Oswaldo C. Moreira et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Aging is a natural, multifactorial and multiorganic phenomenon wherein there are gradual physiological and pathological changes over time. Aging has been associated with a decrease of autophagy capacity and mitochondrial functions, such as biogenesis, dynamics, and mitophagy. These processes are essential for the maintenance of mitochondrial structural integrity and, therefore, for cell life, since mitochondrial dysfunction leads to an impairment of energy metabolism and increased production of reactive oxygen species, which consequently trigger mechanisms of cellular senescence and apoptotic cell death. Moreover, reduced mitochondrial function can contribute to age-associated disease phenotypes in model organisms and humans. Literature data show beneficial effects of exercise on the impairment of mitochondrial biogenesis and dynamics and on the decrease in the mitophagic capacity associated to aging. Thus, exercise could have effects on the major cell signaling pathways that are involved in the mitochondria quality and quantity control in the elderly. Although it is known that several exercise protocols are able to modify the activity and turnover of mitochondria, further studies are necessary in order to better identify the mechanisms of interaction between mitochondrial functions, aging, and physical activity, as well as to analyze possible factors influencing these processes.

## 1. Introduction

Aging is a natural and inevitable process characterized by a progressive decline of individuals both physically and mentally. With age, there is a gradual accumulation of dysfunctional components that results in the deterioration of different biological functions, which finally increases the risk of death [1]. Autophagy, a catabolic mechanism, involves the degradation of damaged cellular and molecular components through the formation of a double membrane structure known as autophagosome, which fuses with the lysosome to form the autophagolysosome, surrounding the structures that will be degraded [2]. Autophagy can be classified according to its selective organelle. Thus, when the target is the mitochondria, it is called mitophagy; ribophagy for the ribosomes; peroxyphagy for the peroxisomes; or reticulophagy for the endoplasmic reticulum, among others [3]. Moreover,

it is important to highlight that, although appropriate levels of autophagy induction are required to extend lifespan, a malfunctioning of autophagy occurs in many old organs and tissues [4].

Aging particularly affects mitochondrial homeostasis [5], and it is clear that mitochondria could contribute to aging due to its key role in the complex balance of cellular processes [6]. Age-related changes also affect mitochondrial membrane potential ( $\Delta\Psi_m$ ) [7], inducing the opening of permeability transition pores in the mitochondrial membrane, which leads to mitochondrial depolarization, that is, a decrease in the  $\Delta\Psi_m$  to  $-100$  mV [8]. Moreover, the age-dependent decline of mitophagy hinders the elimination of dysfunctional or damaged mitochondria and alters mitochondrial biogenesis, leading to a progressive accumulation of mitochondria. These effects result in the deterioration of cellular function [9]. Therefore, physiological aging has been associated with

decreased mitophagic processes but also with impaired mitochondrial functions.

It is important to highlight that many interventions leading to health improvement and extension in lifespan, such as calorie restriction, or treatment with rapamycin, spermidine, metformin, or the antioxidant resveratrol, also induce an activation of the autophagic/mitophagic machinery [4]. In addition, regular physical activity has demonstrated benefits on adults' health and has been also identified as an inducer of autophagy *in vivo* [2, 10]. In the same line, recent evidences have demonstrated that exercise is also able to affect the activity and turnover of mitochondria by increasing biogenesis and mitophagy [11].

In this review, we summarize the role that mitochondria, including its biogenesis, dynamics, and mitophagy, play in the aging process, and how modulation of those functions contributes to the mitochondrial adaptations to physical exercise in the elderly.

## 2. Mitochondria and Aging: Functions and Importance

Mitochondria are the powerhouses of the cell, generating a large part of cellular ATP. Moreover, mitochondria are involved in calcium metabolism, contribute to the formation of intracellular reactive oxygen species (ROS), and play a leading role in the initiation of apoptosis, being therefore the key in maintaining cellular homeostasis and acting as important signaling organelles in different tissues [12]. The size and total number of mitochondria depend on the metabolic needs, the state of differentiation, and the different physiological conditions of the cell [13].

To maintain a healthy status, mitochondria regulate their biogenesis and engage in several dynamic behaviors. The key elements are depicted in Figure 1. Mitochondrial biogenesis is defined as the coordinated regulation between nuclear gene expression, protein import and transcription of mitochondrial DNA (mtDNA) [14]. This process is regulated by a several transcription factors, such as mitochondrial transcription factor A (TFAM) and the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 $\alpha$ ), as well as at a posttranscriptional level [15]. PGC-1 $\alpha$  is also involved in other functions, such as control of mitochondrial genome copy number, regulation of mitochondrial dynamics and modulation of oxidative phosphorylation [16]. Moreover, these organelles are highly dynamic and undergo fusion (the joining of two organelles into one) and fission (the division of a single organelle into two) [17]. Fusion process involves three GTPases; mitofusin (Mfn) 1 and Mfn2, which mediate outer mitochondrial membrane (OMM) fusion, and optic atrophy protein (OPA) 1, which regulates inner mitochondrial membrane (IMM) fusion. On the other hand, fission process is mediated by GTPase dynamin-related protein 1 (Drp1) and generates a polarized and a depolarized mitochondrion [18]. Mitochondria also undergo other dynamic behaviors, such as transport (directed movement within a cell) and degradation (targeted destruction via the mitophagic pathway). All these processes are essential for maintaining a healthy mitochondrial population [17].

The maintenance of mitochondrial structural integrity, biogenesis and function is essential to the cells, since mitochondrial dysfunction can induce disturbances in energy metabolism, increase ROS production and, consequently, trigger mechanisms of apoptotic cell death [12]. Moreover, during the last decades, multiple lines of evidence in model organisms and humans have demonstrated that impaired mitochondrial function can contribute to the aging process, as well as age-associated diseases [19, 20]. In fact, it has been shown that decreased mitochondrial performance is a hallmark of aging possibly due to the central role of mitochondria in metabolism and cellular function. Thus, the potential toxicity of mitochondrial ROS (mtROS), originating from mitochondrial respiratory chain, led to the formulation of the oxidative stress theory of aging, which suggested that the accumulation of oxidative damage to macromolecules is an important point in the aging process [21]. Mitochondrial DNA has two characteristics that make it a key target of mtROS: on the one hand, its proximity to the respiratory chain and, on the other, the lack of protective histones. Damaged mitochondrial DNA alters the respiratory chain, increasing the free radical generation and triggering a vicious cycle. These changes result in organic dysfunction and aging phenotype [22]. Recently, however, in contrast to the original theory favoring oxidative damage as a cause for mtDNA mutations and corresponding declines in mitochondrial function, there are strong data arguing that most mammalian mtDNA mutations originate as replication errors made by the mitochondrial DNA polymerase [6, 19].

Additionally, the protein quality control, or proteostasis, plays an important role in age-related decline driving to the accumulation of misfolded and unfolded proteins and to the mitochondrial dysfunction. To solve this problem, and promote cell survival and organism longevity, cells activate a transcriptional response known as mitochondrial unfolded protein response (mtUPR) [23]. In response to the accumulation of unfolded proteins or dysfunctional oxidative phosphorylation system (OXPHOS), cells activate the mtUPR to recover mitochondrial function through the stabilization of mitochondrial protein-folding environment and upregulation of a cytosolic source of ATP production [24, 25]. In addition, to compensate for the OXPHOS activity reduction, mtUPR can induce mitochondrial biogenesis [25]. Finally, if despite mtUPR activation the cell cannot maintain a  $\Delta\Psi_m$ , the mitochondria are directed to the mitophagy pathway [26].

In aging, skeletal muscle mass decreases from midlife onwards. In addition, mitochondrial functional capacity and mitochondrial density are also reduced [27–29]. However, it is unclear whether these changes are a direct consequence of aging per se, or are due to inactivity. Indeed, a significant improvement in mitochondrial function and an increase in PGC-1 $\alpha$  expression have been observed in old trained subjects [30, 31]. The expression of deleterious mtDNA mutations within cells seems to be also controlled by the balance between fusion and mitochondrial fission. While fusion may allow the “dilution” of a mutant mtDNA species in a set of wild-type molecules, reducing the functional effect, fission may lead to the removal of aberrant

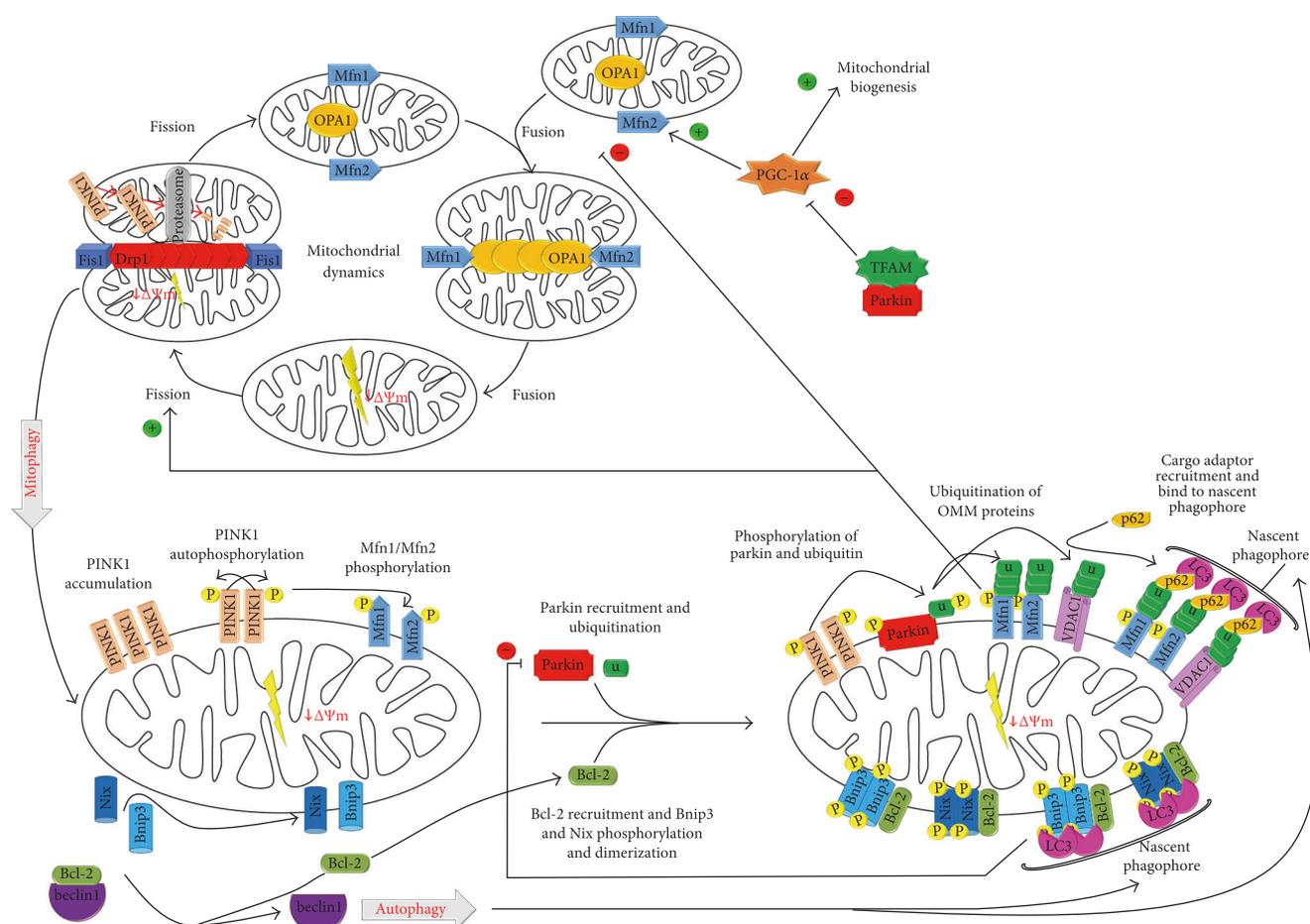


FIGURE 1: Mitochondrial biogenesis, dynamics, and mitophagy process. Machinery regulating mitochondrial morphology dynamics can regulate mitophagy initiation, so mitophagy is inhibited by fusion process, mediated via Mfn1/2 and OPA1, and promoted by fission process, mediated via Drp1. Fission process generates polarized mitochondria, which is driven to fusion process, and depolarized mitochondria, which is targeted by mitophagy. In polarized mitochondria, PINK1 is imported into IMM and degraded via proteasome. In depolarized mitochondria, PINK1 is accumulated in OMM. There, PINK1 recruits Parkin from the cytosol by Mfn1 and Mfn2 phosphorylation and phosphorylates ubiquitin and ubiquitin-like domain of Parkin. Then, Parkin ubiquitinates OMM proteins, such as VDAC1, which recruit the p62/SQSTM1 autophagy cargo adaptor. This receptor simultaneously binds to LC3 localized in the nascent phagosome. Furthermore, mitochondrial biogenesis can promote the fusion process, blocking mitophagy, through PGC-1 $\alpha$ , which stimulates Mfn2 expression; and mitophagy can inhibit mitochondrial biogenesis via Parkin, whose association with TFAM inhibits the expression of PGC-1 $\alpha$ . On the other hand, upon expression, Bnip3 and Nix bind Bcl-2, breaking the beclin1/Bcl-2 interaction, so that beclin1 can induce autophagy initiation. Moreover, Bnip3 and Nix are phosphorylated and form homodimers, which integrate in OMM and then bind to LC3. In both cases, the LC3 bond triggers mitochondria to autophagy.

mitochondria via selective mitophagy [6]. Thus, the polarized mitochondrion can be triggered to the fusion process and depolarized mitochondrion is targeted by mitophagy. In this way, mitophagy is promoted and inhibited by fission and fusion events, respectively [18]. Moreover, mitochondrial dynamics also regulates mtUPR and mitochondrial biogenesis, since Mfn2 overexpression causes increased mitochondrial membrane potential, glucose oxidation, and increased expression of nuclear-encoded subunit OXPHOS complexes I, IV, and V, while Mfn2 depletion represses the expression of complexes I, II, III, and V (a subunit). In addition, PGC-1 $\alpha$  promotes Mfn2 expression [20]. Finally, the balance between biogenesis and degradation plays a central role in the regulation of overall mitochondrial mass. Therefore, the mitophagic machinery seems to be the key in the

clearance of the excess of mitochondria or of those old or defective mitochondria [17]. Thus, these mechanisms of cell destruction are activated in order to preserve the health and good working of tissues, since the increase of oxidative stress in tissues could cause DNA damage and mutations that accelerate the aging of the tissue and decrease its longevity [11].

### 3. Mitophagy Mechanisms

Since mitochondria are involved in both adaptive metabolism and survival in response to cellular stress, it is necessary to maintain good mitochondrial functioning through a tight mitochondrial quality control [32]. Recently, mitophagy has gained importance because the damage accumulated in the

mitochondria may result in a large number of cell consequences. This process of dysfunctional mitochondria removal occurs by two major pathways, damage-induced mitophagy and developmental-induced mitophagy [13]. Mitophagy not only clears dysfunctional mitochondria but also participates in adaptive response to nutrient deprivation, hypoxia or developmental signals, promoting a reduction in the overall mitochondrial mass [32].

Damage-induced mitophagy has the function of removing damaged/defective mitochondria. It is driven by two main proteins: PTEN-induced putative kinase (PINK), which can sense mitochondrial polarization state, and the E3 ubiquitin protein ligase (Parkin) (Figure 1). In normal conditions, where mitochondria are polarized, PINK1 is maintained in low basal levels. For that, PINK1 is imported into IMM and processed by mitochondrial peptidases, such as the protease presenilin-associated rhomboid-like protein (PARL) [16]. However, in damaged/defective mitochondria, which are depolarized, this process is inactivated since  $\Delta\Psi_m$  is insufficient to transfer PINK1 to IMM, accumulating at the OMM [33, 34]. There, some mitochondrial proteins are phosphorylated by PINK1, which results in the recruitment of autophagy cargo adaptors that bind to the autophagosome through light chain 3 protein (LC3) and, subsequently, to the lysosome. Thereby, mitochondria are degraded by autophagolysosomes [32]. To amplify this signal, PINK1 recruits Parkin from the cytosol by Mfn1 and Mfn2 phosphorylation. In addition, PINK1 phosphorylates ubiquitin and ubiquitin-like (Ubl) domain of Parkin, which activates Parkin E3 ligase activity and facilitates its recruitment to OMM [18].

Once on the OMM, Parkin ubiquitinates OMM proteins, in addition to ubiquitinating itself [35]. First, Parkin can trigger the ubiquitination of Mfn1 and Mfn2, preventing the fusion of the mitochondria and working as a mechanism of isolation when these organelles are damaged, for subsequent sequestration and degradation by selective autophagy [36]. Then, Parkin ubiquitinates OMM proteins, such as voltage-dependent anion channel (VDAC) 1, generating polyubiquitin chains via Lys27, so that recruits LC3-interacting region- (LIR-) containing autophagy receptors, such as sequestosome (p62/SQSTM), which simultaneously binds to LC3, pointing to the mitochondria that should be eliminated [13, 18]. Additionally, Parkin regulates mitochondrial biogenesis through its association with TFAM, which inhibits the expression of PGC-1 $\alpha$  as well as its target gene, the nuclear respiratory factor (NRF) 1 [15].

Developmental process-induced mitophagy has the function of programmatic elimination of excessive mitochondrial population [13]. This type of mitophagy is driven by two main proapoptotic proteins, a member of the B-cell lymphoma 2 family (Bcl-2), adenovirus E1B 19kDa-interacting protein (Bnip) 3 and Nix (Nip3-like protein X or Bnip3L), which induce mitophagy by means of several potential mechanisms [37]. However, mitophagy mediated by Bnip3/Nix is different from the PINK1/Parkin pathway, since PINK1 and Parkin proteins cannot bind directly to autophagosome receptors, while Bnip3 and Nix directly bond the autophagy machinery components (Figure 1) [38].

Bnip3 can induce autophagy through several mechanisms, including mitochondrial depolarization, mitochondrial permeability transition pore (MPTP) aperture, or interference in fission-fusion machinery [39]. Phosphorylation regulates mitophagy activity of Bnip3. This phosphorylation promotes binding to LC3II and Golgi-associated ATPase enhancer of 16 kDa (GATE-16), and phosphorylation of serine residue 24 increases the affinity for them. On the other hand, phosphorylation at residues at its C-terminus, adjacent to the transmembrane domain, decreases the mitochondrial damage generated by Bnip3 and inhibits cell death but does not block autophagy/mitophagy. Additionally, Bnip3 increases the location of Drp1 to mitochondria [40].

Nix is already required for programmed mitophagy during maturation of reticulocytes, which includes the removal of membrane organelles, such as mitochondria, through a process related to autophagy, with the main difference that the content of the autophagy vacuole is not recycled but eliminated by exocytosis [39]. It is possible that Nix induces mitophagy by its interaction with LC3. LC3 interacts with gamma-aminobutyric acid receptor-associated protein (GABARAP), to form the LC3/GABARAP complex, and mediates mobilization of autophagosome to mitochondria to be eliminated [18, 36]. In addition, Nix can also interact with protein encoded by the BECN1 gene (beclin1)/Bcl-2 complex to release beclin1, thus freeing beclin1 to induce autophagy [13, 37].

Other phospho-regulated OMM-localized mitophagy receptors are FUN14 domain containing (FUNDC) 1 and Bcl-2-like protein 13 (Bcl2-L-13)/Bcl-Rambo, which promote mitophagy through directly binding to components of the autophagy machinery [38]. Furthermore, OMM-localized lipids, such as ceramide, a sphingolipid, or cardiolipin, a dimeric phospholipid, can also recruit mitophagic machinery binding directly to LC3 [18, 41].

#### 4. Effects of Aging on Mitochondrial Function and Mitophagy

A proper working maintenance of both mitochondrial quantity and quality is strictly related to the conservation of an adequate concentration of several proteins, such as PGC-1 $\alpha$ , TFAM, OPA1, Drp1, Mfn1, Mfn2, mitochondrial fission (Fis) 1 protein, PINK1, Parkin, VDAC1, Bnip3, and Nix, which are involved in mitochondrial biogenesis, dynamics and mitophagy process. However, organic alterations, characteristic of aging, can modify the concentration of these proteins, destabilizing their functions (Table 1).

Some studies that relate autophagy and/or mitochondrial function to the aging process show results that may be different [10, 42–44]. Specifically, regarding proteins involved in biogenesis, most studies found a decrease in mRNA and protein expression of PGC-1 $\alpha$  [45–53]. These data indicate that, during aging, the reduced mitochondrial biogenesis may be due to the lack of response of PGC-1 $\alpha$  to different stimuli. In fact, aged rats behave as PGC-1 $\alpha$  knockout mice [54]. On the contrary, TFAM, another transcription factor that regulates mitochondrial synthesis, seems to be increased in

TABLE 1: Effect of aging on mitochondrial proteins.

Reference	Tissue	Subject	Comparative	Results
[58]	Muscle	Humans	Sedentary and active youths and elderly	NS (mRNA): PGC-1 $\alpha$ ; TFAM; Fis1; Mfn1
[45]	Carotid arteries	Mouse	Sedentary and active youths and elderly	↓: PGC-1 $\alpha$ ; Mfn2 ↑: Fis1
[46]	Muscle	Humans	Youths/elderly	↓: PGC-1 $\alpha$ ; OPA1 NS: Mfn2; Drp1; Fis1
[47]	Muscle	Rats	Youths/elderly	↓ (mRNA and protein): PGC-1 $\alpha$ ; TFAM
[73]	Muscle	Mouse	Youths/elderly	↑: Nix; LC3
[48]	Muscle	Rats	Youths/elderly	↓: PGC-1 $\alpha$ ↑: TFAM; Fis1; Mfn1
[30]	Muscle	Humans	Youths/elderly	NS: PGC-1 $\alpha$ ; Mfn1; Mfn2; Fis1
[49]	Muscle	Humans	Youths/elderly	NS: PGC-1 $\alpha$ ; TFAM
[68]	Muscle	Humans	Youths/elderly	NS (mRNA): PGC-1 $\alpha$ ; TFAM; beclin1; Bnip3 NS: Parkin; PINK1; VDAC1
[50]	Muscle	Humans	Youths and active and sedentary elderly	↓: PGC-1 $\alpha$
[72]	Muscle	Humans	Youths and active and sedentary elderly	↑: PGC-1 $\alpha$ ; beclin1 (elderly versus youths); Bnip3 (sedentary elderly versus youths) NS: Bnip3 (active elderly versus youths)
[71]	Muscle	Humans	Youths/elderly	NS: VDAC1 ↓: beclin1; Fis1
[43]	Muscle	Mouse	Youths/elderly	↑: Mfn1; Mfn2 NS: PGC-1 $\alpha$ ; TFAM; OPA1; Drp1; LC3II ↓: Bnip3; Drp1; Fis1
[67]	Heart	Rats	Youths, old adult, and senescent	↑: OPA1 (old adults versus youths); Mfn2; LC3I NS: beclin1; LC3II
[59]	Gastrocnemius (G) and triceps (T) muscle	Rats	Youths/elderly	↓ (G): Drp1; Fis1; beclin1; LC3II; (T): PINK1; VDAC1 ↑ (G): OPA1; Mfn1; VDAC1; (T): OPA1; Mfn1; Drp1; Fis1 NS: (G): PINK1; (T) beclin1; LC3II
[51]	Muscle	Rats	Youths/elderly	↓: PGC-1 $\alpha$ ↑: TFAM
[55]	Cerebellum, heart, kidney, and liver	Rats	Youths/elderly	↑: TFAM NS (heart): TFAM
[66]	Muscle	Humans	Youths, middle-aged, and elderly	NS: OPA1; Mfn2; Fis1; Drp1; Bnip3; beclin1; LC3II/I
[60]	Muscle	Mouse	Youths/elderly	↑: Mfn2/Drp1 NS: OPA; Drp1; Mfn1; Mfn2 NS: Drp1; beclin1; LC3II
[44]	Muscle	Rats	Youths/elderly	↑: Parkin; Fis1; OPA1; Mfn2
[56]	Brain	Rats	Youths/elderly	↑: TFAM
[52]	Liver	Rats	Middle-aged, old (18 m), and very old (28 m)	↓: TFAM; PGC-1 $\alpha$ NS: VDAC
[57]	Brain, muscle, and liver	Rats	Middle-aged, old (18 m), and very old (28 m)	↑ (brain): TFAM ↓ (muscle and liver): TFAM ↑: Bnip3; LC3II; LC3II/I
[64]	Muscle	Mouse	Youths/elderly	↓: Mfn2 NS: LC3I

TABLE 1: Continued.

Reference	Tissue	Subject	Comparative	Results
[61]	Brain	Mouse	Youth, middle-aged, and elderly	↓: TFAM; Drp1; Mfn2 ↑: OPA1; Mfn1
[53]	Heart	Humans	Youths/elderly	↓: PGC-1 $\alpha$
[75]	Muscle	Humans	Youths/elderly	↓: LC3II/I NS: beclin1
[10]	PBMCs	Humans	Youths/elderly	↓: LC3II/I; beclin1

the muscle and brain from old rats and decreased in the liver or in the muscle from very old rats [48, 51, 55–57]. In humans, TFAM decreases or does not change significantly in the skeletal muscle [49, 58]. Those results seem to indicate that several tissue-specific mitochondrial changes associated with aging might be due to a fine modulation of TFAM binding to mtDNA.

OPA1 is located on the IMM and regulates mitochondrial fusion and ridge structure. In addition, OPA1 can control mitophagy by promoting the stabilization of mitochondrial ridges, which, in turn, act against mitochondrial dysfunction and excessive production of ROS. Thus, a higher expression of this protein indicates an increase in mitochondrial fusion and a decrease in mitophagy [33]. Most research seems to indicate an increase of this protein in the muscle and brain of aged rodents [44, 59–61]. OPA1 acts as a mitochondrial fusion factor, perhaps by interacting with mitofusins or other outer membrane fusion factors [62, 63]. In this line, Mfn1 and Mfn2 also increased in mouse and rat muscles during senescence [43, 44, 48, 59–61]. However, other studies point to an absence of changes or even decreases in these proteins responsible for mitochondrial fusion [30, 45, 46, 58, 60, 64–66]. On the other hand, and as previously mentioned, mitophagy is promoted by fission [18]. Most authors have shown a decrease in Drp1 levels in the heart, brain, and muscle from old rodents [59–61, 67]. Moreover, the ratio between Mfn2 and Drp1, an index of the balance between fusion and fission processes, was significantly increased in atrophied skeletal muscle of aged mice [60]. These results reinforce the possibility that OPA1 might act as an inhibitor of mitochondrial fission [64]. However, results about the role of Fis1 protein in the aging process are not conclusive [30, 44, 45, 48, 58, 59, 65–67].

PINK1 expression seems to be diminished in hepatocytes and liver tissue from mouse over 18 months of life [65], but in samples from human and rat muscles, no significant changes associated with age have been found [59, 68]. Other authors have reported an increase in muscle Parkin levels of old rats, which might be a further consequence of lipofuscin accumulation within lysosomes, resulting in a buildup of cellular debris [44]. Moreover, the dysregulation of mitochondrial dynamics with aging leads to the accumulation of unhealthy mitochondria, which could result in the recruitment of Parkin in order to control mitochondrial quantity and quality [69].

VDAC1 determines the permeability and conductance of the outer membrane and plays an important role as a modulator of permeability of membrane pores [33]. It has been

demonstrated that the level of VDAC1 is significantly decreased in mitochondria isolated from the brain of old rats [70]. The lower protein content might be related to the changes in the mitochondrial susceptibility to Ca<sup>2+</sup> overloading and for the permeability of membrane pore facilitation found with aging [70]. The same result was observed in triceps muscle from old rats [59]. However, other studies note that, apparently, aging does not decrease the expression of this protein in human muscles when young and old are compared [68, 71].

Regarding the effect of aging on the expression of Bnip3, literature does not seem to be very conclusive. Some studies have been found that this protein may increase in the muscles of sedentary elderly [64, 72]. A possible explanation may be that Bnip3 induction compensates for the loss of mitochondrial autophagy and minimizes mitochondrial damage [64]. Conversely, Bnip3 was decreased in the heart of old rats [67] whereas in the muscle of aged humans it remained unchanged [66, 68]. The effects of aging on Nix, and subsequently on autophagy and mitochondrial clearance, in the skeletal muscles are scarcely known. It has been reported that the expression of Nix increases in the skeletal muscles of old mice [73]. This observation, while consistent with research that shows an increase in autophagy markers in aged muscles [44], contrasts with others authors that have reported aging-associated decline in mitophagy [9, 74]. Perhaps, the explanation for this discrepancy may be the extreme ages (3–5 months old versus 22–24 months old) of mice used in the study by Ko et al. [73]. Taking into account these data, it is possible to infer that the increase of both Bnip3 and Nix, associated with age, may indicate a failure in the mechanism of mitophagy. Possibly, Bnip3 and Nix accumulation could hinder these proteins to perform their function in the mitophagic process.

The autophagy markers beclin1 and LC3 (LC3II or LC3II/I) also seem to be altered in the aging process. Thus, beclin1 levels have been reported to decrease in human and mouse muscles [43, 66] and in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from old subjects [10]. However, other studies in human and rat muscles did not show any change [44, 68, 75]. These differences could be due to the tissue type, as observed in gastrocnemius and triceps rat muscles [59]. Several studies have shown that LC3II or LC3II/I increased in mouse aged muscle [64], while other studies have described no changes in human and rat aged muscle [44, 66]. On the other hand, previous results from our research group showed that the LC3II/I ratio was markedly lower in mononuclear cells from old subjects when

compared to a young group [10]. A similar phenomenon has been also observed by others when young and older adult skeletal muscles were studied [75].

Overall, it has been reported that aging is associated with a decline in the mitochondrial function, in the accumulation of abnormal mitochondria and in the mitophagic capacity of the organism. However, studies analyzed do not exhibit a consensus in relation to most proteins involved. It is up to future research to determine more precisely the mechanisms of interaction between aging and mitochondrial functions, as well as to analyze possible factors that could influence this process, such as sex, nutritional pattern or habitual level of physical activity.

## 5. Effects of Exercise on Mitochondrial Biogenesis, Dynamics, and Mitophagy in Aging

Physical exercise has been proposed as a nondrug treatment against different diseases for people of all ages [76]. In addition, it is suggested that regular exercise could promote an increase in mitophagy capacity [14] and produce effects on the mitochondrial life cycle (Table 2).

Theoretically, physical exercise could also have effects on the major signaling pathways that are involved in the quality and quantity control of mitochondria during the aging process, such as mitophagy [77]. Mitochondria produce ROS that can act as signaling molecules, inducing a survival response or causing damage to cellular components. However, contraction of the skeletal muscle during physical exercise can activate a mitochondrial response that improves the quality of mitochondria in different ways: (1) increasing biogenesis; (2) enhancing the expression and action of the proteins involved in the mitochondrial dynamics, as OPA1; (3) raising mitochondrial turnover by the action of mitophagy proteins, such as PINK1, Parkin, Nix and Bnip3; and (4) increasing the quality control of mitochondria through the degradation of damaged or dysfunctional mitochondria [78].

In this regard, exercise would produce an immediate increase of mitochondrial activation involving a significant increase in the expression of the transcription factor PGC-1 $\alpha$  and of nuclear genes encoding mitochondrial protein expression. All these modifications would result in a higher mitochondrial content, with better performance, such as raised oxygen consumption and ATP synthesis, reduced ROS production, and increased mitophagy capacity [31]. In fact, independent of the volume and intensity, regular endurance physical exercise induces the gene expression of PGC-1 $\alpha$  in the skeletal muscles from old human and rodents [30, 31, 47, 48, 79]. Even 7 days of electrostimulation [80] or a single bout of high intensity exercise, both endurance and resistance [68, 81, 82], are able to increase this transcription factor, at mRNA level, in aged rat and human muscles [80]. Only in one study, based on a single bout of 45 min of moderate endurance exercise plus vigorous exercise until exhaustion, no changes in muscle PGC-1 $\alpha$  levels were observed [58]. In the same line, TFAM mRNA increased in the muscle after several weeks of aerobic exercise [31, 47] but no

changes were detected in short trainings (3–6 weeks) [48, 83] or a single bout of exercise [58] carried out by old humans or rats.

OPA1 is another protein that may be unchanged in response to voluntary exercise [46, 84]. However, it has been also demonstrated that 12 weeks of aerobic exercise increased OPA1 mRNA content in the skeletal muscle of old subjects [85]. The mechanism by which exercise could promote the increase of this protein is not established, but it seems to be related to the maintenance of higher levels of mitochondrial fusion and fission processes during exercise [86]. Although results are not conclusive, the increase showed in muscle Mfn1 mRNA during aging could be reversed by a single bout of running in humans [58] or 6 weeks of treadmill running training in rats [48]. However, other studies in human muscle demonstrated that Mfn1 and Mfn2 were unaltered in response to exercise [45, 46, 83, 84, 87]. On the other hand, although Mfn1 and Mfn2 were increased after 12 weeks of cycling [30], a similar aerobic protocol, with the same duration and higher intensity, did not show an increase in the Mfn1 and Mfn2 mRNAs [85]. The role of Drp1 and Fis1 is also contradictory in response to different types of exercise in the elderly [30, 45, 46, 48, 58, 83, 85, 87]. This fact was also described in the previous section when only the effect of the age was evaluated.

In relation to the proteins involved in mitophagy, it is possible to consider that a decrease in the bioavailability of PINK1 and Parkin1 may indicate a higher degree of mitochondrial dysfunction during aging [87]. Thus, the increase of these proteins, caused by exercise, may be an attempt to promote the control of mitochondrial quality through the action of the mitophagy machinery [69]. However, there is no general consensus on the effects of exercise during aging. Studies that evaluated PINK1 found that this protein may not suffer alterations in human muscles [68, 85, 87], suggesting that this pathway is not stimulated by exercise. On the other hand, muscle Parkin protein could remain unchanged [68, 85] or increase at the level of mRNA [87] in response to exercise practice in the elderly. It is important to highlight that, in those studies where no significant changes were observed in PINK1 or Parkin, there was a trend towards an increase in the expression of both proteins [68, 85]. However, results from those studies must be taken with caution due to several reasons. For example, in the study by Ogborn et al. [68], it is remarkable that both, young and old, were grouped to demonstrate the effect of a single bout of resistance exercise over time, while Fealy et al. [85] recruited only obese old subjects (body mass index: 34.6 kg/m<sup>2</sup>), who carried out an aerobic training during 12 weeks.

VDAC1, another Parkin-ubiquitinated protein, appears to exhibit no alterations in response to exercise. Thus, 20 sessions of aerobic cycle ergometer training did not change muscle VDAC1 in old participants [71]. A single bout of resistance exercise also did not modify the protein content of VDAC1 [68]. So, further studies are needed to analyze the behavior of this protein in relation to the practice of physical exercise, to determine more precisely whether physical exercise can induce alterations in its expression.

TABLE 2: Effect of exercise on mitochondrial proteins in aging.

Reference	Tissue	Subject	Comparative	Training	Results
[58]	Muscle	Humans	Sedentary and active youths and elderly	Single bout of treadmill running of 45 min at 70–75% $VO_{2max}$ plus exercise until exhaustion at 90% $VO_{2max}$	↓ (mRNA): Fis1; Mfn1 NS: PGC-1 $\alpha$ ; TFAM
[31]	Muscle	Humans	Sedentary elderly and active elderly Sedentary elderly + training	16 weeks of aerobic exercise (bike, walk, run, or row), 3 times/week at 75–80% HR	↑ (mRNA): PGC-1 $\alpha$ , TFAM (sedentary elderly + training) NS (mRNA): PGC-1 $\alpha$ , TFAM (sedentary elderly versus active elderly) ↑ (mRNA): PGC-1 $\alpha$ (untrained + acute exercise)
[81]	Muscle	Humans	Trained elderly and untrained elderly Untrained elderly + acute exercise	Single bout of high intensity interval exercise on a bicycle ergometer for 20 min at 80% of peak power output	↑: PGC-1 $\alpha$ (trained versus untrained elderly) NS: PGC-1 $\alpha$ (untrained + acute exercise) ↑ (mRNA): Bnip3; Drp1; Parkin; beclin1
[87]	Muscle	Humans	Sedentary elderly Active elderly	Without exercise intervention	NS (mRNA): Mfn2; PINK1; LC3 NS: beclin1
[45]	Carotid arteries	Mouse	Sedentary and active youths and elderly	10 weeks of voluntary aerobic exercise in a wheel running	NS: PGC-1 $\alpha$ ; Fis1; Mfn2 NS (cortex): PGC-1 $\alpha$ , TFAM, Mfn2; LC3II
[83]	Brain	Mouse	Elderly	3 weeks of treadmill running for 60 min at 15–19 m/min and 10° incline	NS (striatum): PGC-1 $\alpha$ , TFAM, Drp1, Mfn2; LC3II ↑ (cortex): Drp1
[82]	Muscle	Humans	Elderly	Single bout of bicycle exercise at 75% $VO_{2max}$ until exhaustion	↑ (mRNA): PGC-1 $\alpha$ NS (mRNA): TFAM
[46]	Muscle	Humans	Youths/elderly	Without exercise intervention	NS: PGC-1 $\alpha$ ; TFAM; Mfn2; OPA1; Drp1; Fis1
[47]	Muscle	Rats	Youths/elderly	12 weeks of treadmill running 5 times/week for 45 min at 17.5 m/min and 10° incline	↑: PGC-1 $\alpha$ ; TFAM NS (mRNA): PGC-1 $\alpha$ ; TFAM
[48]	Muscle	Rats	Youths/elderly	6 weeks of treadmill running for 60 min at 10–22 m/min and 5–10° incline	↑: PGC-1 $\alpha$ ↓: Mfn1 NS: TFAM; Fis1
[30]	Muscle	Humans	Youths/elderly	12 weeks of cycling 3–4 times/week at 60–80% HR reserve for 20–45 min	↑: PGC-1 $\alpha$ ; OPA1; Mfn1; Mfn2; Fis1
[49]	Muscle	Humans	Youths/elderly	Without exercise intervention	↑: PGC-1 $\alpha$ ; TFAM
[80]	Muscle	Rats	Youths/elderly	7 days of electrostimulation 3 h/day at 10 Hz for 0.1 ms duration	↑: PGC-1 $\alpha$ ; TFAM
[68]	Muscle	Humans	Youths/elderly	Single bout of resistance training (4 sets of rept. at 75% 1RM with 2 min rest between sets)	↑ (mRNA): PGC-1 $\alpha$ (3 h); TFAM (24 h); LC3II (3 h) ↑: LC3II (48 h) NS (mRNA): Nix; Bnip3 NS: Parkin; PINK1; VDAC1; beclin1
[79]	Muscle	Mouse	Youths/elderly	6 weeks of voluntary aerobic exercise in wheels running	↑: PGC-1 $\alpha$
[84]	Muscle	Mouse	Elderly	Single bout of voluntary aerobic exercise in wheels running for 3 h	NS: OPA1; Mfn2

TABLE 2: Continued.

Reference	Tissue	Subject	Comparative	Training	Results
[72]	Muscle	Humans	Youths and active and sedentary elderly	Without exercise intervention	↓: Bnip3 NS: PGC-1 $\alpha$ ; beclin1
[85]	Muscle	Humans	Elderly	12 weeks of aerobic exercise for 60 min (20 min cycle ergometer and 40 min treadmill walking) at 80–85% HR <sub>max</sub> 5 days/week	↑ (mRNA): OPA1; Drp1 ↓: phosphorylated Drp1 NS (mRNA): Mfn1; Mfn2; Fis1; PINK1; Parkin
[71]	Muscle	Humans	Youths/elderly	14 days of immobilization and 20 sessions of aerobic cycle ergometer training with 48–58 min at 85% HR <sub>max</sub>	↑ (immobilization + training versus immobilization): VDAC1 NS (immobilization + training versus control): VDAC1 NS (mRNA): Bnip3
[89]	Muscle	Humans	Elderly	24 weeks of combined exercise (walking + strength training + flexibility) 2–3 times/week at moderate intensity	↑ (mRNA): PGC-1 $\alpha$ ; TFAM; LC3II ↑: TFAM
[75]	Muscle	Humans	Youths/elderly	5 days of bed rest and 8 weeks of high intensity resistance exercise	↑: LC3II/I NS: beclin1
[10]	PBMCs	Humans	Elderly	8 weeks of aerobic training	↑: LC3II/I, beclin1
[2]	PBMCs	Humans	Elderly	8 weeks of resistance training	↑: beclin1 NS: LC3II/I

Nix mRNA increases in the muscle sample taken from the vastus lateralis after ultraendurance exercise in human adults [88]. This protein exerts a direct regulation of autophagy, as an increase in its expression may indicate a higher formation of autophagosomes and greater mitophagy flux. In this way, it seems that exercise may stimulate the increase of Nix mRNA and, consequently, of mitophagy, although the mechanism by which exercise produces this increase is not clarified [88]. On the other hand, no changes are found in Nix mRNA in response to exercise in the muscle from aged subjects after a single bout of resistance training [68].

Bnip3 is another protein with no clear behavior in response to exercise. In fact, in two studies carried out in the skeletal muscle of active elderly without exercise intervention, opposite results were obtained (increase and decrease, resp.) [72, 87]. Moreover, no changes were found in Bnip3 mRNA after 24 weeks of combined exercise [89], or after a single bout of resistance training [68]. These contradictory responses could be due to methodological differences, because different exercise protocols were used.

Most of the researches carried out in the samples from human muscles seem to point that the level of physical activity does not change beclin1 content in old subjects [72]. In the same line, beclin1 remains unchanged in response to a single bout of resistance training [68] or to 8 weeks of strength training [75]. Nevertheless, an increase of mRNA beclin 1 level in the muscle from elderly individuals who practiced physical activity has been demonstrated [87]. The same results were obtained by our research group when analyzing the protein content in peripheral blood mononuclear cells, after 8 weeks of aerobic or resistance training [2, 10]. On the other hand, LC3II or LC3II/I levels were increased in human muscle and mononuclear cells after a single bout

of resistance training [68] or 8 weeks of aerobic or high intensity resistance training [10, 75]. Likewise, a training program of 8 weeks of resistance training induced a nonsignificant increase in the LC3II/LC3I ratio in PBMCs from elderly participants [2]. Finally, brain levels of the autophagy marker LC3II were not significantly altered in the mouse after completing 3 weeks of treadmill running [83].

Joint analysis of all studies does not allow establishing a clear trend on the effect of physical activity in relation to the type of exercise, volume, or intensity. Overall, aerobic or combined chronic long-term training (more than 12 weeks) seems to be the type of exercise most effective to counteract the age-related damage at the mitochondrial level [30, 31, 47, 85, 89]. Therefore, it seems that exercise stimulates biogenesis, dynamics, and mitophagic capacity, although there is not a consensus about the behavior of different proteins in response to a physical stimulus. Future studies should focus on investigating the effects that different protocols of physical exercise can cause on the expression of mitochondrial proteins, as well as whether exercise practice could prevent mitochondrial damage and the effects on the dysfunctional mitochondria.

## 6. Conclusions

The maintenance of mitochondrial function and mitophagy is essential to the cells, since mitochondria are involved in both adaptive metabolism and survival in response to cellular stress. Although the studies analyzed do not exhibit a general consensus, it seems that aging impairs mitochondrial biogenesis and dynamics and decreases the mitophagic capacity of the organism. Several interventions, such as any type of physical exercise, are able to affect the activity and turnover of

mitochondria by increasing biogenesis (specifically PGC-1 $\alpha$  and TFAM). In addition to, the changes detected in the biogenesis, aerobic, or combined long-term training also seem to produce increases in several markers of mitochondrial dynamics and mitophagy. However, we consider that it is very important to assess all these markers in different exercise protocols in order to establish a direct relationship between the detected changes and type, intensity, and volume of exercise. So, further research is necessary to determine the mechanisms of interaction between mitochondrial functions, aging, and physical activity, as well as to analyze possible factors that are supposed to influence these processes.

## Abbreviations

Bcl-2:	B-cell lymphoma 2 family
Bnip3:	Adenovirus E1B 19 kDa-interacting protein 3
Bnip3L:	Bnip3-like protein
Drp1:	Dynamin-related protein 1
FUNDC1:	FUN14 domain containing 1
GABARAP:	Gamma-aminobutyric acid receptor-associated protein
GATE-16:	Golgi-associated ATPase enhancer of 16 kDa
IMM:	Inner mitochondrial membrane
LC3:	Light chain 3
LIR:	LC3-interacting region
Mfn:	Mitofusin
MPTP:	Mitochondrial permeability transition pore
mtDNA:	Mitochondrial DNA
mtROS:	Mitochondrial reactive oxygen species
mtUPR:	Mitochondrial unfolded protein response
Nix:	Nip3-like protein X
NRF1:	Nuclear respiratory factor 1
OMM:	Outer mitochondrial membrane
OPA1:	Optic atrophy protein 1
OXPPOS:	Oxidative phosphorylation system
p62/	Sequestosome 1
SQSTM1:	
Parkin:	E3 ubiquitin protein ligase
PARL:	Presenilin-associated rhomboid-like protein
PBMCs:	Peripheral blood mononuclear cells
PGC-1 $\alpha$ :	Receptor gamma coactivator 1-alpha
PINK1:	PTEN-induced putative kinase 1
ROS:	Reactive oxygen species
TFAM:	Mitochondrial transcription factor A
Ubl:	Ubiquitin-like
VDAC1:	Voltage-dependent anion channel 1
$\Delta\Psi_m$ :	Mitochondrial membrane potential.

## Conflicts of Interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

## Acknowledgments

This study was supported by Plan Nacional I+D+I DEP2013-47659-R, Spain. Brisamar Estébanez was supported by a fellowship from the Ministry of Education

of Spain (FPU fellowship, Reference FPU15/05051). Osvaldo C. Moreira was supported by a fellowship from the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—CAPES/Brazil.

## References

- [1] C. López-Otín, M. A. Blasco, L. Partridge, M. Serrano, and G. Kroemer, “The hallmarks of aging,” *Cell*, vol. 153, no. 6, pp. 1194–1217, 2013.
- [2] Y. Mejías-Peña, B. Estébanez, P. Rodríguez-Miguel et al., “Impact of resistance training on the autophagy-inflammation-apoptosis crosstalk in elderly subjects,” *Aging (Albany, New York)*, vol. 9, no. 2, pp. 408–418, 2017.
- [3] A. Schiavi and N. Ventura, “The interplay between mitochondria and autophagy and its role in the aging process,” *Experimental Gerontology*, vol. 56, pp. 147–153, 2014.
- [4] A. M. Cuervo and F. Macian, “Autophagy and the immune function in aging,” *Current Opinion in Immunology*, vol. 29, pp. 97–104, 2014.
- [5] K. Palikaras and N. Tavernarakis, “Mitophagy in neurodegeneration and aging,” *Frontiers in Genetics*, vol. 3, p. 297, 2012.
- [6] B. A. Payne and P. F. Chinnery, “Mitochondrial dysfunction in aging: much progress but many unresolved questions,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, vol. 1847, no. 11, pp. 1347–1353, 2015.
- [7] M. S. Parihar and G. J. Brewer, “Simultaneous age-related depolarization of mitochondrial membrane potential and increased mitochondrial reactive oxygen species production correlate with age-related glutamate excitotoxicity in rat hippocampal neurons,” *Journal of Neuroscience Research*, vol. 85, no. 5, pp. 1018–1032, 2007.
- [8] S. P. Elmore, T. Qian, S. F. Grissom, and J. J. Lemasters, “The mitochondrial permeability transition initiates autophagy in rat hepatocytes,” *FASEB Journal*, vol. 15, no. 12, pp. 2286–2287, 2001.
- [9] K. Palikaras, E. Lionaki, and N. Tavernarakis, “Coupling mitogenesis and mitophagy for longevity,” *Autophagy*, vol. 11, no. 8, pp. 1428–1430, 2015.
- [10] Y. Mejías-Peña, P. Rodríguez-Miguel, R. Fernández-González et al., “Effects of aerobic training on markers of autophagy in the elderly,” *Age (Dordrecht, Netherlands)*, vol. 38, no. 2, p. 33, 2016.
- [11] G. López-Lluch, C. Santos-Ocaña, J. A. Sánchez-Alcázar et al., “Mitochondrial responsibility in ageing process: innocent, suspect or guilty,” *Biogerontology*, vol. 16, no. 5, pp. 599–620, 2015.
- [12] A. Sanz, “Mitochondrial reactive oxygen species: do they extend or shorten animal lifespan?,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, vol. 1857, no. 8, pp. 1116–1126, 2016.
- [13] I. Novak, “Mitophagy: a complex mechanism of mitochondrial removal,” *Antioxidants & Redox Signaling*, vol. 17, no. 5, pp. 794–802, 2012.
- [14] H. N. Carter, C. C. Chen, and D. A. Hood, “Mitochondria, muscle health, and exercise with advancing age,” *Physiology*, vol. 30, no. 3, pp. 208–223, 2015.
- [15] K. Palikaras and N. Tavernarakis, “Mitochondrial homeostasis: the interplay between mitophagy and mitochondrial biogenesis,” *Experimental Gerontology*, vol. 56, pp. 182–188, 2014.
- [16] G. Gousspillou, N. Sgarioto, B. Norris et al., “The relationship between muscle fiber type-specific PGC-1 $\alpha$  content and

- mitochondrial content varies between rodent models and humans,” *PLoS One*, vol. 9, no. 8, article e103044, 2014.
- [17] P. Mishra and D. C. Chan, “Metabolic regulation of mitochondrial dynamics,” *The Journal of Cell Biology*, vol. 212, no. 4, pp. 379–387, 2016.
- [18] A. Hamacher-Brady and N. R. Brady, “Mitophagy programs: mechanisms and physiological implications of mitochondrial targeting by autophagy,” *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 73, no. 4, pp. 775–795, 2016.
- [19] T. E. Kauppila, J. H. Kauppila, and N. G. Larsson, “Mammalian mitochondria and aging: an update,” *Cell Metabolism*, vol. 25, no. 1, pp. 57–71, 2017.
- [20] E. Schrepfer and L. Scorrano, “Mitofusins, from mitochondria to metabolism,” *Molecular Cell*, vol. 61, no. 5, pp. 683–694, 2016.
- [21] S. Hekimi, Y. Wang, and A. Noë, “Mitochondrial ROS and the effectors of the intrinsic apoptotic pathway in aging cells: the discerning killers!,” *Frontiers in Genetics*, vol. 7, p. 161, 2016.
- [22] N. Poulouse and R. Raju, “Sirtuin regulation in aging and injury,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, vol. 1852, no. 11, pp. 2442–2455, 2015.
- [23] M. B. Jensen and H. Jasper, “Mitochondrial proteostasis in the control of aging and longevity,” *Cell Metabolism*, vol. 20, no. 2, pp. 214–225, 2014.
- [24] A. M. Nargund, C. J. Fiorese, M. W. Pellegrino, P. Deng, and C. M. Haynes, “Mitochondrial and nuclear accumulation of the transcription factor ATFS-1 promotes OXPHOS recovery during the UPRmt,” *Molecular Cell*, vol. 58, no. 1, pp. 123–133, 2015.
- [25] Y. Tian, C. Merkwirth, and A. Dillin, “Mitochondrial UPR: a double-edged sword,” *Trends in Cell Biology*, vol. 26, no. 8, pp. 563–565, 2016.
- [26] M. W. Pellegrino, A. M. Nargund, and C. M. Haynes, “Signaling the mitochondrial unfolded protein response,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, vol. 1833, no. 2, pp. 410–416, 2013.
- [27] K. E. Conley, S. A. Jubrias, and P. C. Esselman, “Oxidative capacity and ageing in human muscle,” *Journal of Physiology*, vol. 526, no. 1, pp. 203–210, 2000.
- [28] D. L. Johannsen, K. E. Conley, S. Bajpeyi et al., “Ectopic lipid accumulation and reduced glucose tolerance in elderly adults are accompanied by altered skeletal muscle mitochondrial activity,” *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 97, no. 1, pp. 242–250, 2012.
- [29] S. Larsen, M. Hey-Mogensen, R. Rabøl, N. Stride, J. W. Helge, and F. Dela, “The influence of age and aerobic fitness: effects on mitochondrial respiration in skeletal muscle,” *Acta Physiologica (Oxford)*, vol. 205, no. 3, pp. 423–432, 2012.
- [30] A. R. Konopka, M. K. Suer, C. A. Wolff, and M. P. Harber, “Markers of human skeletal muscle mitochondrial biogenesis and quality control: effects of age and aerobic exercise training,” *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, vol. 69, no. 4, pp. 371–378, 2014.
- [31] N. T. Broskey, C. Greggio, A. Boss et al., “Skeletal muscle mitochondria in the elderly: effects of physical fitness and exercise training,” *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 99, no. 5, pp. 1852–1861, 2014.
- [32] M. Z. Springer and K. F. Macleod, “Mitophagy: mechanisms and role in human disease,” *The Journal of Pathology*, vol. 240, no. 3, pp. 253–255, 2016.
- [33] W. X. Ding and X. M. Yin, “Mitophagy: mechanisms, pathophysiological roles, and analysis,” *Biological Chemistry*, vol. 393, no. 7, pp. 547–564, 2012.
- [34] A. Eiyama and K. Okamoto, “PINK1/Parkin-mediated mitophagy in mammalian cells,” *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 33, pp. 95–101, 2015.
- [35] T. M. Durcan, M. Y. Tang, J. R. Pérusse et al., “USP8 regulates mitophagy by removing K6-linked ubiquitin conjugates from parkin,” *The EMBO Journal*, vol. 33, no. 21, pp. 2473–2491, 2014.
- [36] L. C. Gomes and L. Scorrano, “Mitochondrial morphology in mitophagy and macroautophagy,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, vol. 1833, no. 1, pp. 205–212, 2013.
- [37] P. A. Ney, “Mitochondrial autophagy: origins, significance, and role of BNIP3 and NIX,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, vol. 1853, no. 10, Part B, pp. 2775–2783, 2015.
- [38] N. Matsuda, “Phospho-ubiquitin: upending the PINK-Parkin-ubiquitin cascade,” *Journal of Biochemistry*, vol. 159, no. 4, pp. 379–385, 2016.
- [39] R. A. Gottlieb and R. S. Carreira, “Autophagy in health and disease. 5. Mitophagy as a way of life,” *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, vol. 299, no. 2, pp. C203–C210, 2010.
- [40] K. E. Liu and W. A. Frazier, “Phosphorylation of the BNIP3 C-terminus inhibits mitochondrial damage and cell death without blocking autophagy,” *PLoS One*, vol. 10, no. 6, article e0129667, 2015.
- [41] C. Ploumi, I. Daskalaki, and N. Tavernarakis, “Mitochondrial biogenesis and clearance: a balancing act,” *FEBS Journal*, vol. 284, no. 2, pp. 183–195, 2017.
- [42] M. Gaugler, A. Brown, E. Merrell, M. DiSanto-Rose, J. A. Rathmacher, and T. H. Reynolds 4th, “PKB signaling and atrogene expression in skeletal muscle of aged mice,” *Journal of Applied Physiology*, vol. 111, no. 1, pp. 192–199, 2011.
- [43] A. M. Joseph, P. J. Adhihetty, N. R. Wawrzyniak et al., “Dysregulation of mitochondrial quality control processes contribute to sarcopenia in a mouse model of premature aging,” *PLoS One*, vol. 8, no. 7, article e69327, 2013.
- [44] M. F. O’Leary, A. Vainshtein, S. Iqbal, O. Ostojic, and D. A. Hood, “Adaptive plasticity of autophagic proteins to denervation in aging skeletal muscle,” *American Journal of Physiology - Cell Physiology*, vol. 304, no. 5, pp. C422–C430, 2013.
- [45] R. A. Gioscia-Ryan, M. L. Battson, L. M. Cuevas, M. C. Zigler, A. L. Sindler, and D. R. Seals, “Voluntary aerobic exercise increases arterial resilience and mitochondrial health with aging in mice,” *Aging (Albany, New York)*, vol. 8, no. 11, pp. 2897–2914, 2016.
- [46] A. M. Joseph, P. J. Adhihetty, T. W. Buford et al., “The impact of aging on mitochondrial function and biogenesis pathways in skeletal muscle of sedentary high- and low-functioning elderly individuals,” *Aging Cell*, vol. 11, no. 5, pp. 801–809, 2012.
- [47] C. Kang, E. Chung, G. Diffey, and L. L. Ji, “Exercise training attenuates aging-associated mitochondrial dysfunction in rat skeletal muscle: role of PGC-1 $\alpha$ ,” *Experimental Gerontology*, vol. 48, no. 11, pp. 1343–1350, 2013.
- [48] E. Koltai, N. Hart, A. W. Taylor et al., “Age-associated declines in mitochondrial biogenesis and protein quality control factors are minimized by exercise training,” *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 303, no. 2, pp. R127–R134, 2012.

- [49] R. Lanza, D. K. Short, K. R. Short et al., "Endurance exercise as a countermeasure for aging," *Diabetes*, vol. 57, no. 11, pp. 2933–2942, 2008.
- [50] A. Safdar, M. J. Hamadeh, J. J. Kaczor, S. Raha, J. de Beer, and M. A. Tarnopolsky, "Aberrant mitochondrial homeostasis in the skeletal muscle of sedentary older adults," *PLoS One*, vol. 5, no. 5, article e10778, 2010.
- [51] B. Chabi, V. Ljubicic, K. J. Menzies, J. H. Huang, A. Saleem, and D. A. Hood, "Mitochondrial function and apoptotic susceptibility in aging skeletal muscle," *Aging Cell*, vol. 7, no. 1, pp. 2–12, 2008.
- [52] A. Picca, V. Pesce, F. Fracasso, A. M. Joseph, C. Leeuwenburgh, and A. M. S. Lezza, "Aging and calorie restriction oppositely affect mitochondrial biogenesis through TFAM binding at both origins of mitochondrial DNA replication in rat liver," *PLoS One*, vol. 8, no. 9, article e74644, 2013.
- [53] J. Viña, M. C. Gomez-Cabrera, C. Borrás et al., "Mitochondrial biogenesis in exercise and in ageing," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 61, no. 14, pp. 1369–1374, 2009.
- [54] F. Derbré, M. C. Gomez-Cabrera, A. L. Nascimento et al., "Age associated low mitochondrial biogenesis may be explained by lack of response of PGC-1 $\alpha$  to exercise training," *Age (Dordrecht, Netherlands)*, vol. 34, no. 3, pp. 669–679, 2012.
- [55] M. M. Dinardo, C. Musicco, F. Fracasso et al., "Acetylation and level of mitochondrial transcription factor A in several organs of young and old rats," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 301, no. 1, pp. 187–191, 2003.
- [56] A. Picca, F. Fracasso, V. Pesce et al., "Age-and calorie restriction-related changes in rat brain mitochondrial DNA and TFAM binding," *Age (Dordrecht, Netherlands)*, vol. 35, no. 5, pp. 1607–1620, 2013.
- [57] A. Picca, V. Pesce, F. Fracasso, A. M. Joseph, C. Leeuwenburgh, and A. M. S. Lezza, "A comparison among the tissue-specific effects of aging and calorie restriction on TFAM amount and TFAM-binding activity to mtDNA in rat," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, vol. 1840, no. 7, pp. 2184–2191, 2014.
- [58] Z. Bori, Z. Zhao, E. Koltai et al., "The effects of aging, physical training, and a single bout of exercise on mitochondrial protein expression in human skeletal muscle," *Experimental Gerontology*, vol. 47, no. 6, pp. 417–424, 2012.
- [59] D. Capitanio, M. Vasso, S. De Palma et al., "Specific protein changes contribute to the differential muscle mass loss during ageing," *Proteomics*, vol. 16, no. 4, pp. 645–656, 2016.
- [60] J. P. Leduc-Gaudet, M. Picard, F. St-Jean Pelletier et al., "Mitochondrial morphology is altered in atrophied skeletal muscle of aged mice," *Oncotarget*, vol. 6, no. 20, pp. 17923–17937, 2015.
- [61] K. L. Stauch, P. R. Purnell, and H. S. Fox, "Aging synaptic mitochondria exhibit dynamic proteomic changes while maintaining bioenergetic function," *Aging (Albany, New York)*, vol. 6, no. 4, pp. 320–334, 2014.
- [62] E. Bossy-Wetzell, M. J. Barsoum, A. Godzik, R. Schwarzenbacher, and S. A. Lipton, "Mitochondrial fission in apoptosis, neurodegeneration and aging," *Current Opinion in Cell Biology*, vol. 15, no. 6, pp. 706–716, 2003.
- [63] D. Sebastián and A. Zorzano, "When MFN2 (mitofusin 2) met autophagy: a new age for old muscles," *Autophagy*, vol. 12, no. 11, pp. 2250–2251, 2016.
- [64] D. Sebastián, E. Soriano, J. Segalés et al., "Mfn2 deficiency links age-related sarcopenia and impaired autophagy to activation of an adaptive mitophagy pathway," *The EMBO Journal*, vol. 35, no. 15, pp. 1677–1693, 2016.
- [65] J. Niemann, C. Johné, S. Schröder et al., "An mtDNA mutation accelerates liver aging by interfering with the ROS response and mitochondrial life cycle," *Free Radical Biology & Medicine*, vol. 102, pp. 174–187, 2017.
- [66] G. Distefano, R. A. Standley, J. J. Dubé et al., "Chronological age does not influence ex-vivo mitochondrial respiration and quality control in skeletal muscle," *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, vol. 72, no. 4, pp. 535–542, 2017.
- [67] D. Capitanio, R. Leone, C. Fania, E. Torretta, and C. Gelfi, "Sprague Dawley rats: a model of successful heart aging," *EuPA Open Proteomics*, vol. 12, pp. 22–30, 2016.
- [68] D. I. Ogborn, B. R. McKay, J. D. Crane et al., "Effects of age and unaccustomed resistance exercise on mitochondrial transcript and protein abundance in skeletal muscle of men," *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 308, no. 8, pp. R734–R741, 2015.
- [69] L. A. Scarffe, D. A. Stevens, V. L. Dawson, and T. M. Dawson, "Parkin and PINK1: much more than mitophagy," *Trends in Neurosciences*, vol. 37, no. 6, pp. 315–324, 2014.
- [70] O. Krestinina, T. Azarashvili, Y. Baburina et al., "In aging, the vulnerability of rat brain mitochondria is enhanced due to reduced level of 2',3'-cyclic nucleotide-3'-phosphodiesterase (CNP) and subsequently increased permeability transition in brain mitochondria in old animals," *Neurochemistry International*, vol. 80, pp. 41–50, 2015.
- [71] M. Gram, A. Vigelsø, T. Yokota et al., "Two weeks of one-leg immobilization decreases skeletal muscle respiratory capacity equally in young and elderly men," *Experimental Gerontology*, vol. 58, pp. 269–278, 2014.
- [72] S. Zampieri, L. Pietrangelo, S. Loeffler et al., "Lifelong physical exercise delays age-associated skeletal muscle decline," *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, vol. 70, no. 2, pp. 163–173, 2015.
- [73] F. Ko, P. Abadir, R. Marx et al., "Impaired mitochondrial degradation by autophagy in the skeletal muscle of the aged female interleukin 10 null mouse," *Experimental Gerontology*, vol. 73, pp. 23–27, 2016.
- [74] G. Sgarbi, P. Matarrese, M. Pinti et al., "Mitochondria hyperfusion and elevated autophagic activity are key mechanisms for cellular bioenergetic preservation in centenarians," *Aging (Albany, New York)*, vol. 6, no. 4, pp. 296–310, 2014.
- [75] R. E. Tanner, L. B. Bruncker, J. Agergaard et al., "Age-related differences in lean mass, protein synthesis and skeletal muscle markers of proteolysis after bed rest and exercise rehabilitation," *The Journal of Physiology*, vol. 593, no. 18, pp. 4259–4273, 2015.
- [76] B. K. Pedersen and B. Saltin, "Exercise as medicine - evidence for prescribing exercise as therapy in 26 different chronic diseases," *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, vol. 25, pp. 1–72, 2015.
- [77] B. T. Tam and P. M. Siu, "Autophagic cellular responses to physical exercise in skeletal muscle," *Sports Medicine*, vol. 44, no. 5, pp. 625–640, 2014.
- [78] E. Barbieri, D. Agostini, E. Polidori et al., "The pleiotropic effect of physical exercise on mitochondrial dynamics in aging skeletal muscle," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2015, Article ID 917085, 15 pages, 2015.

- [79] O. M. Palacios, J. J. Carmona, S. Michan et al., "Diet and exercise signals regulate SIRT3 and activate AMPK and PGC-1 $\alpha$  in skeletal muscle," *Aging (Albany, New York)*, vol. 1, no. 9, pp. 771–783, 2009.
- [80] V. Ljubicic, A. M. Joseph, P. J. Adhihetty et al., "Molecular basis for an attenuated mitochondrial adaptive plasticity in aged skeletal muscle," *Aging (Albany, New York)*, vol. 1, no. 9, pp. 818–830, 2009.
- [81] J. N. Cogley, J. D. Bartlett, A. Kayani et al., "PGC-1 $\alpha$  transcriptional response and mitochondrial adaptation to acute exercise is maintained in skeletal muscle of sedentary elderly males," *Biogerontology*, vol. 13, no. 6, pp. 621–631, 2012.
- [82] N. Iversen, P. Krstrup, H. N. Rasmussen, U. F. Rasmussen, B. Saltin, and H. Pilegaard, "Mitochondrial biogenesis and angiogenesis in skeletal muscle of the elderly," *Experimental Gerontology*, vol. 46, no. 8, pp. 670–678, 2011.
- [83] A. M. Gusdon, J. Callio, G. DiStefano et al., "Exercise increases mitochondrial complex I activity and DRP1 expression in the brains of aged mice," *Experimental Gerontology*, vol. 90, pp. 1–13, 2017.
- [84] M. Picard, B. J. Gentil, M. J. McManus et al., "Acute exercise remodels mitochondrial membrane interactions in mouse skeletal muscle," *Journal of Applied Physiology*, vol. 115, no. 10, pp. 1562–1571, 2013.
- [85] C. E. Fealy, A. Mulya, N. Lai, and J. P. Kirwan, "Exercise training decreases activation of the mitochondrial fission protein dynamin-related protein-1 in insulin-resistant human skeletal muscle," *Journal of Applied Physiology*, vol. 117, no. 3, pp. 239–245, 2014.
- [86] J. S. Ju, S. I. Jeon, J. Y. Park et al., "Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition," *The Journal of Physiological Sciences*, vol. 66, no. 5, pp. 417–430, 2016.
- [87] M. J. Drummond, O. Addison, L. Bruncker et al., "Downregulation of E3 ubiquitin ligases and mitophagy-related genes in skeletal muscle of physically inactive, frail older women: a cross-sectional comparison," *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, vol. 69, no. 8, pp. 1040–1048, 2014.
- [88] C. Jamart, N. Benoit, J. M. Raymackers, H. J. Kim, C. K. Kim, and M. Francaux, "Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise," *European Journal of Applied Physiology*, vol. 112, no. 8, pp. 3173–3177, 2012.
- [89] S. E. Wohlgemuth, H. A. Lees, E. Marzetti et al., "An exploratory analysis of the effects of a weight loss plus exercise program on cellular quality control mechanisms in older overweight women," *Rejuvenation Research*, vol. 14, no. 3, pp. 315–324, 2011.



## **13.4. Anexo IV**



OR 1295

**Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) reliability and intraobserver reproducibility for segmental body composition measuring**

*Reproducibilidad de la absorciometría dual de rayos X (DXA) y la reproducibilidad intraobservador para la medición de la composición corporal segmentaria*

Oswaldo Costa Moreira<sup>1,2</sup>, Cláudia Eliza Patrocínio de Oliveira<sup>1,3</sup> and José Antonio de Paz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biomedicine (IBIOMED). Universidad de León. León, Spain. <sup>2</sup>Institute of Biological Science and Health. Federal University of Viçosa. Campus Florestal. Florestal, Minas Gerais. Brazil. <sup>3</sup>Department of Physical Education. Federal University of Viçosa. Viçosa, Minas Gerais. Brazil

Received: 18/05/2017

Accepted: 16/11/2017

Correspondence: Oswaldo Costa Moreira. Institute of Biomedicine (IBIOMED). Universidad de León. Campus Universitario de Vegazana, 24071 León, Spain

e-mail: [osvaldo.moreira@ufv.br](mailto:osvaldo.moreira@ufv.br)

DOI: 10.20960/nh.1295

**ABSTRACT**

**Background:** The measurement precision of body composition can interfere on the diagnosis and prescription of diseases' treatment. Furthermore, with regard to dual energy X-rays absorptiometry (DXA), there may be important differences between the measures of regions of interest (ROI) automatically performed by DXA or manually by

an evaluator, which can cause measurement error and influence the evaluation or diagnosis.

**Aim:** Thus, this study aimed to evaluate the measurement reliability of body composition by DXA and intraobserver reproducibility for the ROI measurement.

**Methods:** A total of 15 young adults were subjected to two full-body scans by DXA, under the same conditions. The first scan of all volunteers was chosen and the extent of the ROI was performed, in two stages, separated by a period of 2 weeks, by a single trained evaluator. The coefficient of variation (CV) and intraclass correlation coefficient (ICC) were calculated with a significance level of  $p < 0.05$ .

**Results:** High-precision measurements of DXA for whole body mass (ICC = 0.999; CV = 2.3%), fat mass (ICC = 0.998; CV = 1.6%), lean mass (ICC = 0.995; CV = 0.3%) and bone mineral content (ICC = 0.996; CV < 0.1%) were obtained. Further, it was observed high intraobserver reproducibility for ROI measurement, with ICC values ranging between 0.952 and 0.999.

**Conclusion:** Body composition measurement by DXA presents high reproducibility for whole body mass, fat mass, lean mass and bone mineral content and also high intraobserver reproducibility for the ROI measurement.

**Key words:** Densitometry. Reliability of results. Reproducibility of results. Body composition. Bone mineral density.

## RESUMEN

**Antecedentes:** la precisión de las medidas de la composición corporal puede interferir en el diagnóstico y prescripción del tratamiento de las enfermedades. Además, con respecto a la absorciometría dual de rayos X (DXA), pueden existir diferencias importantes entre las medidas de regiones de interés (ROI) realizadas automáticamente por DXA o manualmente por un evaluador, lo que puede causar error de medición e influir en la evaluación o diagnóstico.

**Objetivo:** evaluar la reproducibilidad de la medida de la composición corporal por DXA y la reproducibilidad intraobservador para la medición de las ROI.

**Métodos:** quince adultos jóvenes fueron sometidos a dos exploraciones de cuerpo completo por DXA, en las mismas condiciones. Se escogió la primera exploración de los voluntarios y se realizó la extensión de las ROI en dos etapas, separadas por un periodo de 2 semanas, por un solo evaluador capacitado. El coeficiente de variación (CV) y el coeficiente de correlación intraclass (ICC) se calcularon con un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

**Resultados:** la DXA presentó alta precisión para las medidas de la masa corporal total (ICC = 0.999, CV = 2.3%), masa grasa (ICC = 0.998, CV = 1.6%), masa magra (ICC = 0.995, CV = 0.3%) y hueso (ICC = 0,996, CV < 0,1%). Además, se observó una alta reproducibilidad intraobservador para la medida de las ROI, con valores de ICC entre 0,952 y 0,999.

**Conclusión:** la medida de la composición corporal por DXA presenta alta reproducibilidad para todos los componentes y también alta reproducibilidad intraobservador para la medida de las ROI.

**Palabras clave:** Densitometría. Fiabilidad de los resultados. Reproducibilidad de los resultados. Composición corporal. Densidad mineral ósea.

## INTRODUCTION

Body composition, admittedly plays a key role in the health/disease process, since its components have, among others, metabolic functions that may be involved in the prevention or genesis of various diseases (1-5). In this sense, the precise measurement or monitoring of fat mass (FM), lean mass (LM) or bone mineral content (BMC) can have significant clinical application, once can interfere in the diagnosis and prescription of drug or non-drug treatment (6,7).

Based on this premise, a recent systematic review (8) indicates that the dual energy X-ray absorptiometry (DXA) is being considered the new gold standard for measuring body composition, due to its high correlation with the methods of the MRI and computed tomography and present better cost benefit compared to these methods. This is making to engage yourself in some studies to analyze the reliability of

measurements of the apparatus for body composition assessment (9-14). However, these studies only analyze the data relating to measures total body and not providing accurate information about DXA to measure segmental body composition.

Segmental body composition is measured by DXA defining regions of interest (ROI) (15), which can be automatically set by the apparatus or manually by the observer. Both definitions can lead to errors which, in turn, can interfere with the measurement result. In this sense, none of the studies reviewed had dedicated to analyze if assessing the measurements of ROI made by the same evaluator are accurate or not.

Therefore, this study aimed to evaluate the reliability of the measurement of body composition by DXA and intraobserver reproducibility for the measurement of ROI.

## **METHODS**

### **Sample**

The sample included 15 young adults, males, apparently healthy and physically active who volunteered for the study. None of the volunteers reported use of drugs or any substance that could interfere with the results of the measures.

Before any test, all volunteers were informed of the possible risks and objectives of the study and signed informed consent to participate. All assessment procedures were done in the Exercise Physiology Laboratory of the Department of Biomedical Sciences at the University of León. The procedures used in this work were approved by the Ethics Committee of the University of León, in accordance with the ethical principles expressed in the Declaration of Helsinki.

### **Procedures**

To set the measurements precision, both the apparatus used and the evaluator who performed the measurements of the ROI, was conducted the design presented in figure 1.

To check the reproducibility of DXA to measure body composition, the volunteers were subjected to two full-body scans by DXA using a densitometer General Electric, model

Lunar Prodigy and the software Encore 2009, version 13.0. Before conducting the exploration, the equipment has been calibrated.

The two scans of each volunteer were done after stand by for 30 minutes and under the same conditions. In the first whole body scan (S1) by DXA, the volunteer laid in supine position on the device, with upper limbs extended and parallel to the trunk, hands pronated and supported on the device. The lower limbs were also extended, with standard separation at hip width and secured by a tape that held his ankles. They were instructed to remain as still as possible for the duration of the scan (10,15,16). After the end of the first scan, it was requested to the volunteer stands up and lies down again on device, keeping the same body position of the first scan. From there, the second exploration proceeded with another whole body scan (S2) by DXA. Each scan took about seven minutes and from S1 and S2, an automatic calculation of DXA outcome parameters (TBM, FM, LM, BMC) was achieved. For each subject, the following outcome parameters were obtained:  $TBM_{S1}$ ,  $FM_{S1}$ ,  $LM_{S1}$ ,  $BMC_{S1}$ ,  $TBM_{S2}$ ,  $FM_{S2}$ ,  $LM_{S2}$ ,  $BMC_{S2}$ . Using these outcome parameters, were calculated the coefficient of variation (CV), the interclass correlation coefficient (ICC) and its 95% confidence interval (CI95%).

To measure the intraobserver reproducibility for ROI measures, in two different days (D1 and D2, seven to twenty days between both readings), one expert manually defined ROIs on the S1. Then, the body was divided into 16 ROI, determined based in some anatomical points, as follows:

- *Foot*: it was considered as part of the bottom edge of the distal phalanx of the hallux to the line drawn on the medial and lateral malleolus of tibiotalar joint. The medial and lateral boundaries of the ROI were made so that encompasses all soft tissue. The same points were considered for the right and left feet.
- *Leg*: it was measured starting from the line drawn on the medial and lateral malleolus of tibiotalar joint to the line drawn at the lower edge of the medial and lateral condyles of the knee joint. The medial and lateral boundaries of the ROI were made so that encompasses all soft tissue. The same points were considered for the right and left legs.

- *Thigh*: it was measured from the line drawn at the lower edge of the medial and lateral condyles of the knee joint to the lower edge of the ischium. The medial and lateral boundaries of the ROI were made so that encompasses all soft tissue. The same points were considered for the right and left thighs.
- *Pelvic area*: it was measured from the lower edge of the ischium to the posterior-superior border of the iliac crest. The medial boundary of the pelvic area was made by a line drawn from the midline of the pubic symphysis to the median line of the lumbar vertebra four (L4). The lateral boundary of the ROI was made so that encompasses all soft tissue. The same points were considered for the right half and the left half of the pelvic area.
- *Trunk*: it was measured from the posterior-superior edge of the iliac crest to the upper edge of the sternoclavicular joint. The lateral boundaries of the ROI (arm spacing) were made along the midline of the glenohumeral joint, right and left.
- *Hand*: it was measured starting from the lower edge of the distal phalanx of the middle finger to the line drawn on the lower edge of the medial and lateral styloid process of radiocarpal joint. The medial and lateral boundaries of the ROI were made so that encompasses all soft tissue. The same points were considered for the right and left hands.
- *Forearm*: it was measured from the line drawn on the lower edge of the medial and lateral styloid process of the radiocarpal joint to the line drawn on the medial and lateral epicondyles of the humerus. The medial and lateral boundaries of the ROI were made so that encompasses all soft tissue. The same points were considered for the right and left forearms.
- *Arm*: it was measured starting from the line drawn on the medial and lateral epicondyles of the humerus to the upper edge of the acromial extremity of the clavicle. The medial boundary of the ROI (separation of the trunk) was made in the midline of the glenohumeral joint and the lateral boundary was made so that all soft tissue was encompassed by the ROI. The same points were considered for the right and left arms.

- *Head*: it was measured from the upper edge of the sternoclavicular joint to the cranial vertex.

All ROI are illustrated in figure 2.

These ROI delineations were then used to compute the total mass of each body segment, for each subject. Using these outcome parameters, was computed the CV, the ICC and its CI95% to total mass of each body segment.

### **Statistical treatment**

All statistical analyzes were performed in SPSS for Windows, version 21 (IBM, Chicago, USA). Initially, the data were subjected to normality test of Shapiro-Wilk. After, the descriptive analysis of the data was done, through the mean and standard deviation (SD). The reliability of body composition measurements by DXA was determined by calculating the CV and the ICC. ICC was also used to verify the intraobserver reproducibility for the measurement of each one of the 16 ROI, with a CI95%. A level of statistical significance of  $p < 0.05$  was established for all treatments.

### **RESULTS**

The 15 volunteers tested had a mean age of  $24.25 \pm 5.52$  years, with extremes ranging between 18.5 and 36 years; an mean height of  $179.80 \pm 7.23$  cm, with extremes of 169 and 192 cm; an mean body mass of  $78.15 \pm 7.92$  kg, with extreme values of 67 and 99 kg; and an mean BMI of  $24.13 \pm 1.34$  kg/m<sup>2</sup>, with extreme values ranging between 21.49 and 26.86 kg/m<sup>2</sup>.

Regarding DXA reliability to measure the components of body composition, it may be seen in table I that for all components, a low CV and high internal consistency of measurement repeatability were found.

The results of the intraobserver reproducibility for the measurement of the 16 ROI show a high consistency of the measures of the two assessments, with intraclass correlation values slightly lower in the feet, pelvic areas and trunk, as shown in the table II.

## DISCUSSION

The reliability of results for DXA to measure the TBM, FM, LM and BMC, showed high levels of reproducibility for all components evaluated with lower CV ( $< 2.3\%$ ) and higher ICC (between 0.992 and 1.000).

Similar results were observed by Hind et al. (12), in a study that sought to assess DXA reliability *in vivo* (GE Lunar Prodigy) to measure body composition in 52 British adults. The authors found low CV for BMC (1.3%) and FM (2.5%). However, they did not describe the CV for LM and TBM. Similarly, Rothney et al. (14), in a study that aimed to characterize *in vivo* the reliability of total and regional body composition by DXA (GE Lunar iDXA) in a sample of obese American adults, found CV of 0.5% for BMC, 1% for FM and 0.5% for LM with the total body scanning.

In obese people, Carver et al. (11), who sought to evaluate DXA reliability (GE Lunar iDXA) to measure body composition and fat distribution, also observed low CV values for measures BMC (1.08%), FM (0.9%) and LM (0.94%). The authors also reported ICC values of 0.99 for the three components (BMC, FM and LM).

Based on the protocols, study objectives and characteristics such as quality control, reliability and valuation measures, the DXA may be considered as one of better methods to determining the values of FM, LM and BMC, and also one advanced and cost-effective technology that is useful for data acquisition of body composition in clinical trials of short to medium term, since its limitations are considered when planning the stages of an intervention (16,17).

Thus, regardless of the characteristics of the populations evaluated, DXA has shown good reliability, with high ICC and low CV (11,12,14), as observed in our study. These results allow us to consider the DXA as a method for assessing total body composition with precise and consistent results at different times of evaluation.

Little has been done to evaluate the intraobserver reproducibility of measurements of the ROI in DXA, especially since most studies assessing the reproducibility of this method were based in automatic measurements performed by the device. Thus, this study presents an unprecedented contribution to the scientific literature by evaluating the reproducibility of measurements intra analyzed for the 16 ROI, in which higher ICC

values were obtained (between 0.952 and 0.999), indicating an excellent measurement reliability of this method for all body regions.

Similarly, the study by Buckinx et al. (10), which aimed to evaluate the correlation between the bioelectric impedance and DXA (Hologic QDR Discovery) for assessment of body composition in 138 Belgian adults, found an intraobserver reproducibility also high [ICC = 0.89 (0.86 to 0.92) for the total sample], although presented lower values than the ones of this study. However, Buckinx et al. (10) did not determine the reproducibility of measures for body segments; neither established which procedure used to define the ROI in the members.

The ICC is a statistical calculation that can be used to indicate reliability or reproducibility between two measurements for the same evaluator. The more ICC approaches 1, the higher the precision or reproducibility, thereby resulting in equal values of 0.90 or superior can be regarded as very high, values between 0.70 and 0.89, can be regarded as high and values between 0.50 and 0.69, as moderate (18). In this sense, the values found in this study indicate an intraobserver agreement very high for the definitions and readings of the measures, regardless of the region scanned and region size.

Thus, it is possible to consider that in measurements TBM, FM, LM and BMC, the DXA has very high reliability. In this study, for the 16 ROI analyzed, was also obtained a high intraobserver reproducibility, which indicates a high reliability for both measures, for the instrument and the observer.

This study presents a possible limitation for evaluating only a sample of men, once sex can influence body composition (19,20) and that the amount of fat may involve greater variations in measurements of DXA (Valentine et al., 2008). However, we opted for this strategy in order to minimize a possible influence of factors related to the female gender, as the menstrual cycle, in the body composition. Future researches should establish the possible differences in segmental body composition between genders.

Based on the results of this study, we can conclude that the calculations performed with DXA in young people show a high reproducibility for both, TBM and FM, LM and

BMC. In addition, the definition of specific body segments, the ROI, performed by a single observer, presents high reproducibility in both large and small segments.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

To the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES for the doctoral scholarship provided to Osvaldo Costa Moreira and to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq for doctoral scholarship provided to Claudia Eliza Patrocínio de Oliveira.

To the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG for help with the costs of publication of this research.

#### REFERENCES

1. Eaton SB, Eaton SB. Physical Inactivity, Obesity, and Type 2 Diabetes: An Evolutionary Perspective. *Res Q Exerc Sport* 2017;88(1):1-8.
2. Martín Castellanos Á, Cabañas Armesilla MD, Barca Durán FJ, Martín Castellanos P, Gómez Barrado JJ. Obesidad y riesgo de infarto de miocardio en una muestra de varones europeos. El índice cintura-cadera sesga el riesgo real de la obesidad abdominal. *Nutr Hosp* 2017;34(1):88-95.
3. Minn YK, Suk SH. Higher skeletal muscle mass may protect against ischemic stroke in community-dwelling adults without stroke and dementia: The PRESENT project. *BMC Geriatr* 2017;17(1):45.
4. Caminha TC, Ferreira HS, Costa NS, Nakano RP, Carvalho RE, Xavier AF Jr, et al. Waist-to-height ratio is the best anthropometric predictor of hypertension: A population-based study with women from a state of northeast of Brazil. *Medicine (Baltimore)* 2017;96(2):e5874.
5. Urquidez Romero R, Murguía Romero M, Esparza Romero J, Díaz Torres BA, Rodríguez Tadeo A, Medrano Donlucas G, et al. Abdominal obesity is strongly associated to blood pressure in young Mexicans. *Nutr Hosp* 2017;34(2):357-62.

6. Fosbøl MØ, Zerahn B. Contemporary methods of body composition measurement. *Clin Physiol Funct Imaging* 2015;35(2):81-97.
7. Yu S, Visvanathan T, Field J, Ward LC, Chapman I, Adams R, et al. Lean body mass: the development and validation of prediction equations in healthy adults. *BMC Pharmacol Toxicol* 2013;14:53.
8. Costa Moreira O, Patrocínio de Oliveira CE, Candia-Luján R, Romero-Pérez EM, De Paz-Fernandez JA. Methods of evaluation of muscle mass: a systematic review of randomized controlled trials. *Nutr Hosp* 2015;32(3):977-85.
9. Ball SD, Altena TS, Swan PD. Comparison of anthropometry to DXA: a new prediction equation for men. *Eur J Clin Nutr* 2004;58(11):1525-31.
10. Buckinx F, Reginster JY, Dardenne N, Croisier JL, Kaux JF, Beudart C, et al. Concordance between muscle mass assessed by bioelectrical impedance analysis and by dual energy X-ray absorptiometry: a cross-sectional study. *BMC Musculoskelet Disord* 2015;16:60.
11. Carver TE, Christou NV, Andersen RE. In vivo precision of the GE iDXA for the assessment of total body composition and fat distribution in severely obese patients. *Obesity (Silver Spring)* 2013;21(7):1367-9.
12. Hind K, Oldroyd B, Truscott JG. In vivo precision of the GE Lunar iDXA densitometer for the measurement of total body composition and fat distribution in adults. *Eur J Clin Nutr* 2011;65(1):140-2.
13. Kulkarni B, Mamidi RS, Balakrishna N, Radhakrishna KV. Body composition assessment in infancy and early childhood: comparison of anthropometry with dual-energy X-ray absorptiometry in low-income group children from India. *Eur J Clin Nutr* 2014;68(6):658-63.
14. Rothney MP, Martin FP, Xia Y, Beaumont M, Davis C, Ergun D, et al. Precision of GE Lunar iDXA for the measurement of total and regional body composition in nonobese adults. *J Clin Densitom* 2012;15(4):399-404.
15. Hirsch KR, Smith-Ryan AE, Blue MN, Mock MG, Trexler ET. Influence of segmental body composition and adiposity hormones on resting metabolic rate

- and substrate utilization in overweight and obese adults. *J Endocrinol Invest* 2017;40(6):635-43.
16. Moreira OC, Alonso-Aubin DA, Oliveira CEP, Candia-Luján R, de Paz JA. Methods of assessment of body composition: an updated review of description, application, advantages and disadvantages. *Arch Med Deporte* 2015;32(6):387-94.
  17. Marinangeli CP, Kassis AN. Use of dual X-ray absorptiometry to measure body mass during short- to medium-term trials of nutrition and exercise interventions. *Nutr Rev* 2013;71(6):332-42.
  18. Bosquet L, Maquet D, Forthomme B, Nowak N, Lehance C, Croisier JL. Effect of the lengthening of the protocol on the reliability of muscle fatigue indicators. *Int J Sports Med* 2010;31(2):82-8.
  19. Mabire L, Mani R, Liu L, Mulligan H, Baxter D. The Influence of Age, Sex and Body Mass Index on the Effectiveness of Brisk Walking for Obesity Management in Adults. A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Phys Act Health* 2017:1-46.
  20. Nagata JM, Golden NH, Peebles R, Long J, Murray SB, Leonard MB, et al. Assessment of Sex Differences in Body Composition Among Adolescents With Anorexia Nervosa. *J Adolesc Health* 2017;60(4):455-9.
  21. Valentine RJ, Misic MM, Kessinger RB, Mojtahedi MC, Evans EM. Location of body fat and body size impacts DXA soft tissue measures: a simulation study. *Eur J Clin Nutr* 2008;62(4):553-9.

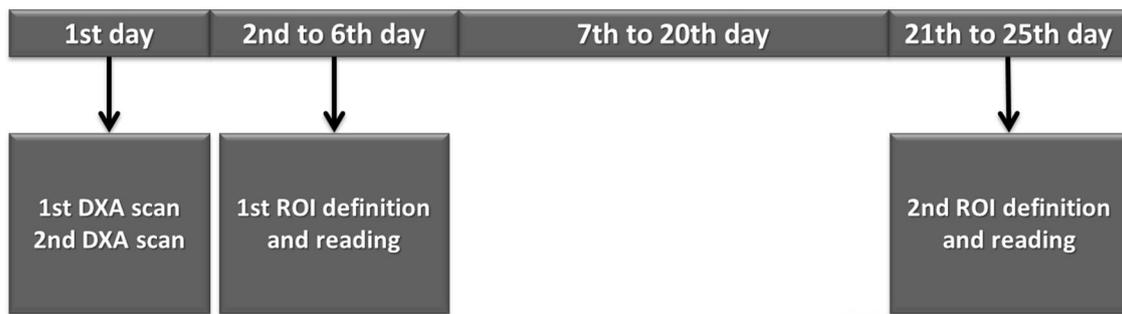


Figure 1. Summary of the methodological design used in this study.

**Nutrición  
Hospitalaria**

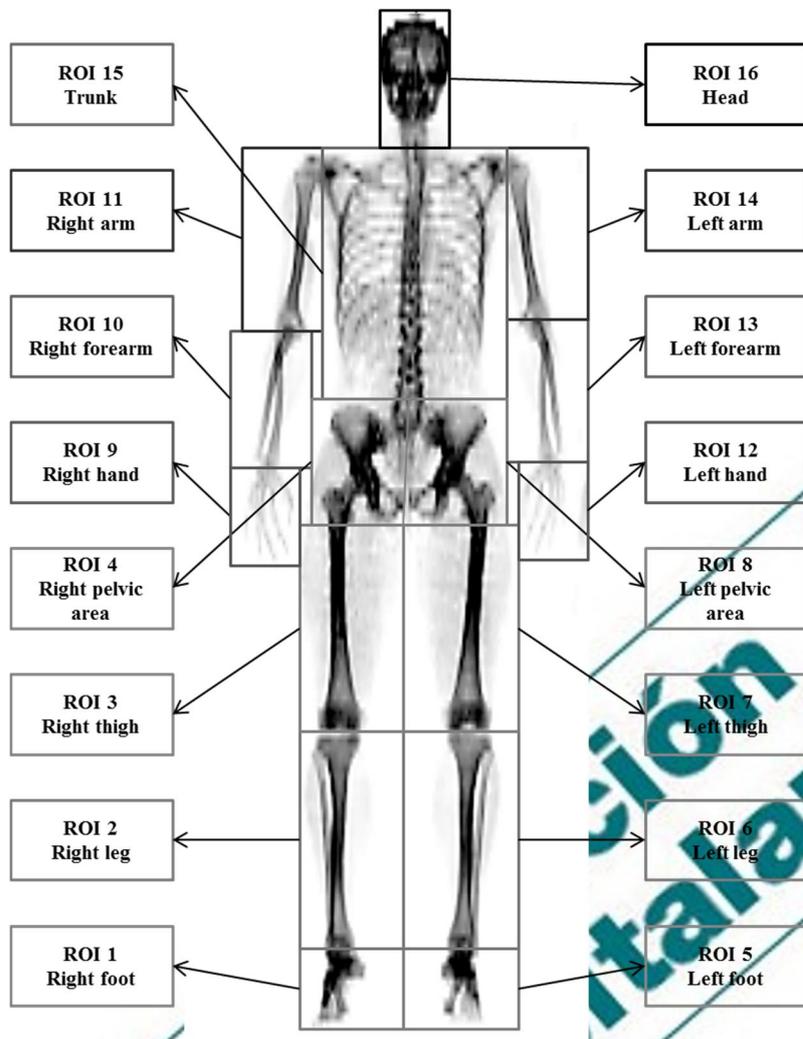


Figure 2. Graphic representation of the 16 ROI analyzed.

Table I. Results of DXA reliability to measure TBM, FM, LM and BMC

	<i>Eval.</i>	<i>X</i>	<i>SD</i>	<i>CV</i>	<i>ICC (CI95%)</i>	<i>p- value</i>
TMB	1 <sup>st</sup>	76.79	7.95			
	2 <sup>nd</sup>	76.57	7.69	2.3%	0.999 (0.998-1.000)	< 0.001
FM	1 <sup>st</sup>	12.09	4.90			
	2 <sup>nd</sup>	11.91	5.06	1.6%	0.998 (0.992-0.999)	< 0.001
LM	1 <sup>st</sup>	60.71	6.21			
	2 <sup>nd</sup>	60.79	6.03	0.3%	0.997 (0.992-0.999)	< 0.001
BMC	1 <sup>st</sup>	3.66	0.58			
	2 <sup>nd</sup>	3.66	0.60	0.1%	0.998 (0.993-0.999)	< 0.001

Eval.: evaluation; X: mean; SD: standard deviation; CV: coefficient of variation; ICC: intraclass correlation coefficient; IC95%: confidence interval of 95%; TBM: total body mass; FM: fat mass; LM: lean mass; BMC: bone mineral content.

**Nutrición  
Hospitalaria**

Table II. Intraobserver reproducibility results for measuring of the 16 ROI of analyzed body segments

<i>Body segments</i>	<i>Eval.</i>	<i>X</i>	<i>SD</i>	<i>ICC (CI95%)</i>	<i>p value</i>
Right foot	1 <sup>st</sup>	1.02	0.08	0.955 (0.866-0.985)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	1.03	0.08		
Left foot	1 <sup>st</sup>	1.03	0.09	0.952 (0.857-0.984)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	1.05	0.10		
Right leg	1 <sup>st</sup>	3.45	0.51	0.998 (0.995-0.999)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	3.43	0.50		
Left leg	1 <sup>st</sup>	3.41	0.49	0.998 (0.994-0.999)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	3.40	0.48		
Right thigh	1 <sup>st</sup>	9.00	1.06	0.994 (0.982-0.998)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	9.12	1.15		
Left thigh	1 <sup>st</sup>	8.73	0.99	0.996 (0.987-0.998)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	8.82	1.07		
Right pelvic area	1 <sup>st</sup>	7.09	0.86	0.986 (0.959-0.995)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	6.94	0.82		
Left pelvic area	1 <sup>st</sup>	7.07	0.95	0.989 (0.968-0.996)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	6.93	0.84		
Trunk	1 <sup>st</sup>	24.21	2.39	0.983 (0.950-0.994)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	24.18	2.29		
Right hand	1 <sup>st</sup>	0.34	0.08	0.994 (0.982-0.998)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	0.34	0.08		
Left hand	1 <sup>st</sup>	0.32	0.10	0.996 (0.987-0.999)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	0.32	0.10		
Right forearm	1 <sup>st</sup>	1.27	0.22	0.999 (0.998-1.000)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	1.26	0.22		
Left forearm	1 <sup>st</sup>	1.21	0.20	0.995 (0.986-0.998)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	1.21	0.20		
Right arm	1 <sup>st</sup>	2.81	0.47	0.992 (0.975-0.997)	< 0.001

	2 <sup>nd</sup>	2.78	0.48		
Left arm	1 <sup>st</sup>	2.79	0.42	0.993 (0.979-0.998)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	2.76	0.45		
Head	1 <sup>st</sup>	5.78	0.41	0.995 (0.984-0.998)	< 0.001
	2 <sup>nd</sup>	5.81	0.41		

Eval.: evaluation; X: mean; SD: standard deviation; ICC: intraclass correlation coefficient; CI95%: confidence interval of 95%.

