



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales

“Marcadores genéticos y metabólicos asociados a miostatina y masa muscular en mexicanos con diferente grado de actividad física”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta

M. C. Vianney Curiel Cervantes

Dirigido por:

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola

Co-Director:

Dr. Mauro E Valencia Juillerat

Querétaro, Qro. a febrero de 2021



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Doctorado en Ciencias Biológicas

“Marcadores genéticos y metabólicos asociados a miostatina y masa muscular en mexicanos con diferente grado de actividad física”

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta:

M. C. Vianney Curiel Cervantes

Dirigido por:

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola

Co-dirigido por:

Dr. Mauro E Valencia Juillerat

Dra. Miriam Aracely Anaya Loyola
Presidente

Dr. Mauro E Valencia Juillerat
Secretario

Dr. Juan Carlos Solís Sainz
Vocal

Dra. Teresa García Gasca
Suplente

Dr. Jorge Luis Rosado Loria
Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Febrero, 2021
México

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	ANTECEDENTES	4
2.1	El rol de la masa muscular en la salud y el ejercicio	4
2.2	Aspectos genéticos asociados a la masa muscular	5
2.2.1	SNP K153R de MSTN y otros SNPs asociados a la masa muscular esquelética y el ejercicio	5
2.3	Miostatina como regulador de la composición corporal	6
2.4	Miostatina: potencial indicador metabólico y del rendimiento físico	9
2.5	Marcadores endócrinos de la masa muscular y ejercicio	9
2.5.1	Hormonas y proteínas asociadas con la actividad muscular y el ejercicio	9
2.5.2	Impacto del ejercicio en la regulación de la masa muscular a nivel endócrino	11
III.	JUSTIFICACIÓN	14
IV.	OBJETIVOS	15
	Fase 1: Frecuencia del rs1805086 de MSTN y su asociación con la composición corporal	
V.	MATERIALES Y MÉTODOS.	16
5.1	Población, tipo de estudio, aspectos éticos	16

5.2	Criterios de selección	18
5.3	Parámetros evaluados	17
5.4	Análisis estadístico objetivos	20
VI.	RESULTADOS	
6.1	Parámetros clínicos de la población	22
6.2	Genotipo rs1805086	23
6.3	Asociación entre rs1805086 y obesidad	23
VII.	DISCUSIÓN	29
VIII.	CONCLUSIONES	33
IX.	REFERENCIAS	34
	Fase 2: EL ENTRENAMIENTO Y SU EFECTO EN MARCADORES ENDÓCRINOS Y MUSCULARES	39
V.	MATERIALES Y MÉTODOS	40
5.5	Participantes y diseño experimental	40
5.6	Criterios de selección objetivos	19
5.7	Parámetros evaluados	22
5.8	Análisis estadístico objetivos	22
VI.	RESULTADOS	47
VII.	DISCUSIÓN	57
VIII.	CONCLUSIÓN	61

ÍNDICE DE CUADROS

Fase 1		
1	Cuadro 1. Características generales de los participantes	23
2	Cuadro 2. Frecuencias alélicas y genotípicas del rs1805086	25
3	Cuadro 3. Asociación de los genotipos del rs1805086 con los parámetros de obesidad	26
4	Cuadro 4. Asociación de los genotipos del rs1805086 con los parámetros de obesidad.	27
5	Cuadro 5. Características antropométricas y de composición corporal de los participantes.	49
6	Cuadro 6. Características bioquímicas de los participantes.	50
7	Cuadro 7. Parámetros endócrinos de los participantes.	51
8	Cuadro 8. Coeficientes de correlación de los marcadores endócrinos de actividad muscular por grupo	55

ÍNDICE DE FIGURAS

Fase 1

- | | | |
|---|---|----|
| 1 | Figura 1. Diagrama de flujo de los participantes | 17 |
| 2 | Figura 2. OR multi-ajustado e intervalos de confianza para asociación del rs1805086 del gen MSTN en individuos con obesidad | 28 |
| 3 | Figura 3. Modelo hipotético propuesto para la interacción entre el rs1805086 con el tejido adiposo. | 29 |

Fase 2

- | | | |
|---|--|----|
| 4 | Figura 4. Diagrama de flujo de los participantes de estudio. | 42 |
| 5 | Figura 5. Regresión lineal entre el IMLG y el índice IGF-1/MSTN en los grupos ENS y ES. | 52 |
| 6 | Figura 6. Regresión lineal entre la razón FST/MSTN con el IGF-1 en ambos grupos | 53 |
| 7 | Mecanismos bioquímicos propuestos para mostrar la interacción entre los marcadores endócrinos en ambos grupos en ayuno | 56 |

AGRADECIMIENTOS

Obtener el grado de doctor es un proceso tanto personal como profesional que puede ser en algún sentido transformador. Si bien ese cambio es muy individual, es consecuencia de la suma de factures humanos y no humanos presentes durante el camino. En este sentido, quiero agradecer:

A mis padres, que siempre me han apoyado en la libertad de mis decisiones profesionales y en general en mi camino de vida.

Al CONACYT, que con su programa de becas de posgrado hace posible que muchas personas consoliden sus objetivos que estudiar un posgrado y así obtener uno de los requisitos para buscar una carrera en el mundo de la investigación.

Al Doctorado en Ciencias Biológicas que tiene la ventaja y la desventaja de ser tan diverso, pero en esa variedad permite ampliar el estudio de algo tan completo como un *sistema biológico*.

A mi directora de tesis, quien me dio la oportunidad de realizar un proyecto de investigación relacionado temas que se requiere desarrollar en este país y que tiene un gran sentido práctico para la sociedad y mis intereses profesionales.

A mis asesores de tesis, que a través de su crítica me han apoyado durante el proceso. En particular al Dr. Mauro Valencia Juillerat y al Dr. Juan Carlos Solís.

A colaboradores, equipo técnico y estudiantes que apoyaron en el proceso obtención de datos o gestiones institucionales para que se llevara a cabo.

A los participantes de estudio y la Dra. Paula Costa Urrutia.

A Julián, por acompañarme en el proceso.

A la vida, que me permite experimentar y lograr un objetivo pendiente en mi proceso de formación académica e investigación.

I. INTRODUCCIÓN

La actividad física, la práctica sistemática y los programas del ejercicio confieren efectos positivos en la salud y en la funcionalidad del organismo en cualquier etapa de la vida. Éstas representan una estrategia efectiva de salud pública para apoyar en la prevención de enfermedades crónico-degenerativas (Després 2012). A nivel molecular, metabólico y fisiológico muchos de los beneficios del ejercicio pueden ser explicados por la alteración en la secreción de miocinas y citocinas que libera la masa muscular esquelética (MME) directa o indirectamente al ejercitarse. La miostatina (MSTN) es una de las principales miocinas producidas por el MME. El interés por la miostatina provino de los casos donde el polimorfismo de MSTN K153R (rs1805086) que se ha relacionado con hipertrofia muscular en animales (Szabo *et al.*, 1998) y humanos (Schuelke *et al.*, 2004). A pesar de que la proteína funcional MSTN es altamente conservada (Allen *et al.*, 2011), se ha demostrado una fuerte asociación en la respuesta al entrenamiento de resistencia en los individuos heterocigotos Africo-Americanos (Kostek *et al.*, 2009) y con potencia en hombres deportistas jóvenes (Santiago *et al.*, 2011). Si bien la presencia del polimorfismo rs1805086 de la miostatina se ha usado en biotest (Metric®, MyDNA®) como marcador de potencia, falta por hacer análisis más profundos en hispanos y más aún en mexicanos.

En los inicios de su descubrimiento y hasta hace algunos años, las investigaciones sobre miostatina sérica giraban en torno a su función como regulador negativo de la masa muscular (Lee, 1997). A partir del 2010 incrementó la evidencia científica de su potencial como agente terapéutico en trastornos genéticos (*inhibidores de miostatina*) (Malik *et al.*, 2012) y en problemas crónico-degenerativos (Zhoe *et al.*, 2010) que afectan la masa muscular, así como en el envejecimiento (White & LeBrasseur, 2014) y en la modificación de la masa muscular en fisicconstructivistas (Sharp *et al.*, 2014). Actualmente se ha empezado a explorar su influencia en el metabolismo

energético, la diabetes mellitus y la obesidad (Chen *et al.*, 2012), lo que hace pensar que la miostatina tiene una gran relevancia en la homeostasis energética y que su actividad también puede afectar la fisiología hepática, adiposa e incluso del tejido óseo (Dong *et al.*, 2016). En atletas máster y de élite hay aspectos por explorar que pudieran evidenciar el uso de miostatina y otros marcadores biológicos de respuesta al ejercicio como indicadores del control biológico en el área del metabolismo, el ejercicio e incluso el dopaje. Aunque hay publicaciones sobre las concentraciones en sangre de miostatina en ciertas poblaciones deportistas y no deportistas, no existen valores de referencia de la miostatina sérica validados, ni datos publicados en mexicanos, mucho menos para atletas. Considerando la variabilidad biológica y las diferencias genéticas es fundamental generar datos para distintas poblaciones y grupos como deportistas (Lakshman *et al.*, 2009).

Por lo que este estudio se basó en investigar primero la prevalencia del polimorfismo rs1805086 de la miostatina en población Mexicana, y ver las asociaciones de la parte genética y metabólica del ejercicio y la composición corporal y en su última parte también se evaluó el efecto de la miostatina con marcadores del sistema inmune y el impacto que tuvieron en nadadores

El objetivo general del proyecto fue analizar posibles marcadores genéticos y metabólicos asociados a la masa muscular y al ejercicio en mexicanos con diferente nivel de condición física. El proyecto fue dividido en dos fases, en la primera fase se analizaron aspectos genéticos relacionados con polimorfismos de nucleótido simples (SNPs) asociados con la masa muscular, para lo cual se generó una revisión bibliográfica exhaustiva, la cual permitió plantear la investigación para evaluar la asociación del polimorfismo rs1805086 de la MSTN y marcadores antropométricos y de composición corporal de población joven mexicana.. En la segunda fase se realizó investigación para evaluar la asociación de marcadores endócrinos y del

sistema inmune asociados a la masa muscular y el ejercicio personas entrenadas (nadadores) y no entrenadas.

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

II. ANTECEDENTES

2.1 El rol de la masa muscular en la salud.

Habitualmente se habla de la masa muscular esquelética (MME) desde la perspectiva del rendimiento deportivo, sin considerar y en ocasiones minimizar su rol en la salud de jóvenes y adultos mayores (Wolfe, 2006). Entre las funciones más importantes de la MME se destacan que ayuda a mantener la masa proteica vital de todos los órganos del cuerpo, proveer del nitrógeno necesario para el sistema inmune y durante la recuperación de enfermedades, además de ayudar a que el gasto de energía y uso de nutrimentos sea más eficiente tanto en reposo como en actividad (Volpi *et al.*, 2004). La MME cobra mayor importancia y se hace más evidente en situaciones de enfermedad y envejecimiento. Por ejemplo: la pérdida de MME es un determinante de la sobrevivencia de una persona con cáncer o de la prognosis en una persona con enfermedades cardiovasculares (Leod *et al.*, 2016; Shrikantan *et al.*, 2016). Por otro lado, el deterioro músculo-esquelético en adultos mayores tiene consecuencias severas, tales como la sarcopenia, la osteopenia y el incremento de osteoartritis y de caídas, disminuyendo la calidad de vida de las personas (Cruz-Jentoft *et al.*, 2010; Siparsky *et al.*, 2014). La correcta funcionalidad de la MME incluso se considera como un predictor independiente de la longevidad y el riesgo de enfermedades incluyendo Diabetes Tipo 2 (Shrikantan y Karlamangla, 2014; McGregor *et al.*, 2014; Guerrero *et al.*, 2016).

2.2 Aspectos genéticos asociados a la composición corporal y la masa muscular.

Algunas propiedades musculares como la anatomía estructural y las conexiones musculares con tejidos específicos están determinadas desde el desarrollo embrionario mientras que otras varían con condiciones fisiológicas (entrenamiento físico) o fisiopatológicas (sarcopenia y miopenia) (Blaauw *et al.*, 2013). Las características funcionales de la MME no sólo están asociados a la diferencia entre etnias y razas (Silva AM *et al.*, 2010), sino también a la variabilidad individual, la edad y al sexo (Ahtiainen *et al.*, 2016). Se ha reportado una asociación entre 0.58 y 0.78 de la MME con indicadores natos en pruebas de fuerza en Suecos (Silventoinen *et al.*, 2008) y un significativo grado de herencia del tejido magro en familias con antecedentes Africanos (Prior *et al.*, 2007). Si bien es cierto que el fenotipo muscular es poligénico, se sabe que hay genes con mayor asociación a la variabilidad individual de la MME y al ejercicio. De todos los genes involucrados el gen de la miostatina (MSTN) o factor de diferenciación del crecimiento-8 (GDF-8) es el que más se pudiera relacionar con la masa y tipo de fibra muscular (Beunen, 2006; Kostek, *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2012; Ferreira *et al.*, 2015).

2.2.1 Polimorfismo SNPs K153R de MSTN y otros SNPs asociados a la masa muscular esquelética y el ejercicio.

La MSTN o factor diferenciador del crecimiento-8 (GDF-8) es un miembro de la superfamilia de proteínas que actúan como factores transformadores del crecimiento (TGF) que en modelos animales (Szabo *et al.*, 1998) y humanos (Schuelke *et al.*, 2004) ha mostrado ser un fuerte regulador negativo de la masa muscular (Liu *et al.*, 2003) y puede inducir hipertrofia y posiblemente hiperplasia en las células musculares esqueléticas. Los niveles de miostatina en sangre aumentan con la edad y esto se relaciona con el decremento de MME (Scharf y Heineke, 2012) con cambios en hormonas anabólicas,

principalmente testosterona, hormona del crecimiento y el factor de crecimiento parecido a insulina (Marcell *et al.*, 2001). A nivel clínico se han desarrollado inhibidores de miostatina para tratar distintos tipos de distrofias musculares o para incrementar la masa muscular en fisicconstructivistas (estética), con resultados variables (Chien *et al.*, 2013). Las mutaciones en MSTN están asociadas con el incremento de la MME en humanos y otros mamíferos. En humanos no está claro si la expresión de la MSTNexpresión influye en las diferencias interindividuales de la masa muscular en respuesta al entrenamiento o en decremento muscular al envejecer. Se ha mostrado que la deficiencia del gen de MSTN resulta tanto en incremento de la MME en ratones como con el predominio de las fibras tipo IIb (Amthor *et al.*, 2007). En un estudio de un niño con el polimorfismo K153R e hipertrofia muscularal que se le dio seguimientodesde su nacimiento hasta los 4.5 años no se encontraron problemas cardiovasculares o alteraciones funcionales de la MM (Schuelke *et al* 2004).Otras investigaciones han detectado hasta 5 polimorfismos humanos en el gene MSTN (Ferrell *et al.*,1999) y han reportado que aunque no hubo significancia en la respuesta al entrenamiento entre los grupos étnicos, el polimorfismo R153X fue excesivamente representado en los no-respondedores sugiriendo que ese alelo puede jugar un rol en ciertos fenotipos musculares y en respuesta al entrenamiento de fuerza especialmente en Áfricao-Americanos (Santiago *et al.*,2011; Kostek *et al.*, 2009).

2.3 Miostatina como regulador de la composición corporal.

La masa muscular es un tejido que responde altamente a factores heredables que directamente afectan también sus características funcionales (Thomas *et al.*, 2000). Algunas propiedades musculares como la anatomía estructural y las conexiones musculares con tejidos específicos están determinadas desde el desarrollo embrionario mientras que otras varían con condiciones

fisiológicas (entrenamiento físico) o fisiopatológicas (sarcopenia y miopenia) (Blaauw *et al.*, 2013). Debido a la secreción de miocinas (entre otros factores), el músculo esquelético es considerado como un órgano endócrino. El papel funcional de las miocinas todavía no queda muy claro. Una de estas miocinas es la miostatina (MSTN) también conocida como factor diferenciador del crecimiento-8 (GDF-8). Esta es un miembro de la superfamilia de proteínas que son factores transformadores del crecimiento (TGF) que en modelos animales (Szabo *et al.*, 1998) y humanos (Schuelke *et al.*, 2004) ha mostrado ser un fuerte regulador negativo de la masa muscular (Liu *et al.*, 2003) y puede inducir hipertrofia y posiblemente hiperplasia en las células musculares esqueléticas. Los niveles de miostatina en sangre aumentan con la edad y esto se relaciona con el decremento de masa muscular (Scharf y Heineke, 2012) que ocurre al envejecer e incluso con la sarcopenia (Elkina *et al.*, 2011) y con el riesgo de infarto (Furihata *et al.*, 2016). Además es consistente con cambios en hormonas anabólicas, principalmente testosterona, hormona del crecimiento y el factor de crecimiento parecido a insulina (Marcell *et al.*, 2001).

La MSTN es una de las principales miocinas que secreta el MME y afecta la composición corporal (masa grasa y masa magra) así como la fisiología muscular y muy probablemente también la de otros órganos.

Debido al papel de la MSTN como regulador negativo de la masa muscular, en ratones knockout, animales y humanos se han usado fármacos inhibidores de miostatina para evaluar el efecto de su inhibición y la relación con la masa muscular. En la mayoría de estos estudios en los que se ha visto el efecto de la inhibición MSTN, se ha observado que han habido efectos positivos en la cantidad de masa muscular y parámetros como la fuerza específica; sin embargo, se ha encontrado también que se promueve la disminución del ADN mitocondrial y por lo tanto, de las mitocondrias por unidad de volumen y tuvo un efecto negativo en la densidad capilar. Una de las posibles

explicaciones es que la miostatina ejerce efectos sobre las cadenas pesadas de miosina (Girgenrath *et al.*, 2005) que a su vez regulan el tipo de fibra muscular. Así la inhibición o disminución de los niveles de miostatina provoca el incremento de las fibras glucolíticas tipo IIB reduciendo el contenido mitocondrial; lo cual también puede afectar negativamente el estado de oxidoreducción (redox) de la célula muscular (Ploquin *et al.*, 2012). Acorde con estos datos, funcionalmente hablando, usar inhibidores de esta proteína para tratar enfermedades no es la vía. Lo interesante es que, al menos en ratones knockout hacer el ejercicio correcto podría provocar la retención de la plasticidad muscular y con ello evitar que ocurran los cambios negativos funcionales inducidos en condiciones de no entrenamiento (Matsakas *et al.*, 2012). Si bien se ha mostrado que, los hombres universitarios activos tratados con un inhibidor de miostatina mejoraron significativamente la masa magra comparado con los controles, aunque ambos grupos mejoraron su fuerza (Sharp *et al.*, 2014). Esto puede ser conveniente para alguien que se entrena por motivos estéticos, como los fisicoconstructivistas, pero no sería beneficioso para mejorar las capacidades funcionales de alguien que se entrena por salud o competición.

La miostatina también posee efectos sobre el tejido adiposo en personas sedentarias. Y se ha encontrado que al estudiar a personas con índice de masa corporal adecuado y personas con obesidad, los mayores niveles de MSTN se encontraron en personas con obesidad y estuvieron asociados con síndrome metabólico, resistencia a la insulina, niveles elevados de TNF- α , mayor grasa corporal y baja masa muscular (Según Pinheiro *et al.*, 2017), y en conjunto con la relación leptina/adiponectina, la MSTN fue eficaz para identificar el fenotipo obeso. También han reportado que las concentraciones circulantes elevadas de MSTN se han encontrado en personas con obesidad extrema y presencia de resistencia a la insulina (Hittel *et al.*, 2000).

Si bien en modelos animales usando ratones sedentarios se propone que la mejora metabólica (sensibilidad a la insulina disminución de masa grasas, etc) puede deberse a un efecto directo en la inhibición de la MSTN, se desconoce si en humanos hay algún efecto distinto (Izumiya *et al.*, 2008).

2.4 Miostatina: potencial indicador metabólico y del rendimiento físico.

Si bien se ha demostrado a través de estudios transversales y longitudinales que los niveles de MSTN son diferentes con la edad, con ciertas condiciones de ejercicio y en respuesta a ciertos tratamientos. Al momento no existen valores de referencia de MSTN validados para hacer un diagnóstico, tampoco se sabe si la etnia o la raza la afectan y si la misma MSTN puede influenciar los valores de hormonas como la testosterona que incluso pueden afectar su prescripción farmacológica o los valores corte para efectos dopaje en atletas competitivos (Ellis y Nyborgt, 1992; Hue *et al.*, 2014 y Saudan *et al.*, 2006).

Además, existen discrepancias en los métodos de medición de miostatina en sangre que pudiera afectar las variaciones de los hallazgos (Lakshman *et al.*, 2008).

2.5. Marcadores endócrinos de la masa muscular y ejercicio.

2.5.1 Hormonas y proteínas que regulan la actividad muscular y el ejercicio.

Varias proteínas y hormonas tienen un impacto regulador en la fisiología muscular. La miostatina (MSTN) es una de las principales miocinas que secreta el músculo esquelético y afecta la composición corporal (masa grasa y masa magra) como la fisiología muscular (y muy probablemente de otros órganos). La MSTN o factor diferenciador del crecimiento-8 (GDF-8) es un miembro de la superfamilia de proteínas factores transformadores del

crecimiento (TGF) que en modelos animales (Szabo *et al.*, 1998) y humanos (Schuelke *et al.*, 2004) ha mostrado ser un fuerte regulador negativo de la masa muscular (Liu *et al.*, 2003) y puede inducir hipertrofia y posiblemente hiperplasia en las células musculares esqueléticas. Los niveles de miostatina en sangre aumentan con la edad y esto se relaciona con el decremento de masa muscular (Scharf y Heineke, 2012) que ocurre al envejecer e incluso con la sarcopenia (Elkina *et al.*, 2011) y con el riesgo de infarto (Furihata *et al.*, 2016). La acción de la MSTN es altamente regulada por la Folistatina (FST). FST previene la unión de la MSTN con el receptor tipo IIB, con la consecuente inducción de mecanismos de síntesis de proteínas musculares mediados por las SMAD y mTOR y la neutralización de la actividad de la MSTN circulante (Lee *et al.*, 2010). En roedores la FST induce hipertrofia de la MME (Hansen *et al.*, 2011). Aunque la liberación de ambas proteínas cambian con la edad, la liberación de MSTN y FST parecen estar más influenciadas por factores del estilo de vida, principalmente el ejercicio (Ratkevicius *et al.*, 2011). Hay evidencia en ratones que el efecto de la Irisina (IRI) tiene acciones sobre la hipertrofia masa muscular (Reza *et al.*, 2017) por mecanismos que pudieran ser sinérgicos al ejercicio. Un estudio en hombres sometidos a una actividad en altura se encontró que miostatina tiene relación con la IRI (Śliwicka *et al.*, 2017). Es crucial estudiar la relación de IRI con otras hormonas anabólicas y catabólicas en humanos que no realizan entrenamiento dirigido a la hipertrofia.

El IGF-1 es una hormona que regula la acción de la MSTN y al parecer tiene acción sinérgica con FST sobre la masa muscular. En etapas del desarrollo y crecimiento efecto del IGF-1 en la MME parecen ser interdependiente de la hormona del crecimiento (Velloso 2008). A partir de la etapa adulta el IGF-1 hay otros factores que tienen mayor influencia en la MME. El IGF-1 tiene un rol principal en la reparación del tejido muscular inducido por lesión o entrenamiento intenso (Song *et al.*, 2013). Se conoce el impacto de la

testosterona (TEST) en la masa muscular. Hombres con hipogonadismo tienen menor masa libre de grasa y mayor cantidad de masa grasa. Y los niveles bajos de TEST en hombres mayores se asocian con pérdida de fuerza en extremidades inferiores y mayor cantidad de grasa visceral en hombres con diversos orígenes genéticos (Melton *et al.*, 2000; Roy *et al.*, 2002). No obstante se ha demostrado que la regulación de la masa muscular y la composición corporal implica otros reguladores adicionales a la testosterona (Bashin *et al.*, 2001).

MSTN, FST, IGF-1 y TEST coinciden en un mismo mecanismo molecular para estimular la expresión de genes mediado por SMADs, mTOR, AKT y FOXO, que regulan la masa muscular esquelética (White *et al.*, 2013). Además, cada una puede ser considerada como potencial biomarcadores en la salud-enfermedad y como moduladores de la composición corporal (Lee *et al.*, 2010; Nindl BC, *et al.* 2011; Chien *et al.*, 2013). Falta por conocer la interacción de estos metabolitos en personas sometidas a entrenamientos físicos agresivos como el de resistencia láctica durante el proceso de envejecimiento.

2.5.2 Impacto del ejercicio en la regulación de la masa muscular esquelética.

Algunas propiedades musculares como la anatomía estructural y las conexiones musculares con tejidos específicos están determinadas desde el desarrollo embrionario mientras que otras varían con condiciones fisiopatológicas -sarcopenia, miopenia-ó fisiológicas -entrenamiento físico- (Blaauw *et al.*, 2013). La inhibición de la miostatina no ha mostrado efectos positivos funcionales en casos de distrofia muscular (Amthor *et al.*, 2007) sin intervención de ejercicio físico. Por el contrario, el ejercicio correcto parece provocar la retención de la plasticidad muscular y con ello evitar que los

cambios negativos funcionales inducidos en condiciones de no entrenamiento ocurran (Matsakas *et al.*, 2012). En hombres jóvenes saludables sometidos a un entrenamiento de resistencia, el efecto en la fuerza inducido por la inhibición de la miostatina no fue mejor que el del ejercicio (Sharp *et al.*, 2014). El entrenamiento aeróbico en personas con obesidad indujo disminución en los niveles e miostatina. La relación de la FST con capacidades funcionales del MME es contradictoria con distintos programas de ejercicio (Hittel *et al.*, 2010). Parece que el ejercicio de resistencia ha mostrado ser el más benéfico para incrementar los niveles de esta proteína en mujeres mayores (Hofmann *et al.*, 2016).

El tipo de ejercicio también afecta los niveles de IGF-1 y testosterona. Al parecer el ejercicio aeróbico de ligera a moderada intensidad no tiene efecto sobre los niveles de testosterona y afecta negativamente los de IGF-1 (Nishida *et al.*, 2010). En contraparte, el entrenamiento intenso no dirigido a la hipertrofia muscular es capaz de mejorar los niveles de testosterona aun en adultos mayores que eran sedentarios (Hayes *et al.*, 2017). El entrenamiento de fuerza es capaz de modular los niveles de IGF-1 y testosterona, así como el catabolismo tanto en hombres con obesidad y con peso normal (Mangine *et al.*, 2015; Sheikholeslami-Vatani, 2017) Por lo anterior, parece que en humanos jóvenes y mayores, el ejercicio de resistencia y entrenamiento de fuerza regular positivamente FST, IGF-1 y TEST y negativamente a la MSTN.

En general, las investigaciones evalúan el efecto de dos tipos de: aeróbico y anaeróbico. Poco se sabe el efecto del entrenamiento mixto con alto componente intenso en la modulación de los metabolitos de interés. El entrenamiento físico programado incluye trabajo de tolerancia láctica (Deminice *et al.*, 2007). El entrenamiento de esas capacidades físicas es agresivo para el organismo de quien se entrena, y esa *agresión* también puede traer efectos benéficos (Ghosh 2004; Radak *et al.*, 2017). Por su

impacto en la salud diversas asociaciones como la Asociación Americana del Corazón, el Grupo de Trabajo Internacional sobre Obesidad y la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer recomiendan ampliamente el entrenamiento intenso como parte de la promoción de la salud y la prevención de algunas enfermedades (FAO/WHO, 2002). Por lo anterior y considerando que la MME disminuye en cantidad y calidad disminuye paulatinamente en la etapa adulta, es fundamental conocer el impacto del entrenamiento con un componente intenso y no asociado a la hipertrofia muscular sobre el perfil hormonal muscular. Esto permitirá encontrar mejores parámetros sobre salud, adaptación y control biológico del entrenamiento durante el proceso de envejecimiento, así como mejora de las herramientas terapéuticas.

III. JUSTIFICACIÓN

La adecuada cantidad y funcionalidad de la MME es un factor protector del desarrollo de ciertas enfermedades, incluso disminuye el riesgo de mortalidad en personas con enfermedades cardiovasculares y es elemento predictor de longevidad. Tanto la genética como el ejercicio impactan negativa o positivamente en la MME por fines de salud o rendimiento físico. SNPs de la MME como el MSTN K1523R han mostrado ser una ventaja en el rendimiento físico en poblaciones africanas y en composición corporal de algunas etnias de China como los Han. Por otro lado, ciertos marcadores endócrinos de actividad muscular como MSTN, FST modulan el anabolismo y catabolismo de la MME en humanos. Ambas son influenciadas por el IGF-1, que afecta el incremento y reparación de las fibras musculares. El rol reparador de IRI sobre la MME ha sido descrito en ratones, pero falta esclarecer su efecto en humanos. Se sabe que programas controlados de ejercicio modulan la respuesta endócrina de marcadores conocidos como IGF-1 y TEST en obesos o atletas de élite jóvenes, pero se desconoce el efecto sumado de todos los marcadores, así como su influencia en la masa muscular de adultos y mayores. Además de MSTN otras citocinas como IL-6, CPR, IL-10, ST2, E-Selectina, Fas y FASL de respuesta inmune juegan un rol fundamental en la MME, salud y rendimiento físico. El objetivo de este proyecto fue explorar la asociación de posibles marcadores genéticos y metabólicos en población mexicana adulta que puedan representar nuevos marcadores biológicos del control del ejercicio y posiblemente blancos terapéuticos.

IV . OBJETIVO GENERAL.

Analizar la asociación de miostatina y otros indicadores de la masa muscular desde una perspectiva genética y metabólica en personas mexicanos con diferente grado de actividad física.

4.1Objetivos específicos.

FASE 1

1. Determinar la frecuencia del SNP MSTN K153R en población mexicana.
2. Analizar la asociación de la composición corporal con el SNP MSTN K153R.

FASE 2

1. Determinar los niveles basales de miostatina sérica y otros indicadores de la masa muscular en adultos mexicanos con distinto nivel de entrenamiento.
2. Identificar los marcadores endócrinos que permiten mantener un balance anabólico mediado por el entrenamiento al envejecer.

FASE 1 EVALUACIÓN DE LA FRECUENCIA ALÉLICA DEL POLIMORFISMO DE MSTN K153R Y SU ASOCIACION CON COMPOSICION CORPORAL

V. MATERIALES Y METODOS

5.1 Población, tipo de estudio y aspectos éticos FASE 1.

En este estudio trasnversal descriptivo y de asociación, participaron 1200 jóvenes, pero al final solo se incluyeron 1024 que cumplían los criterios de inclusión. A los participantes que cumplieron con los criterios de inclusión de este estudio se les realizó una evaluación nutricia integral que contemplo la recolección de datos antropométricos, composición corporal, marcadores bioquímicos, actividad física y polimorfismo del gen de MSTN rs1805086 (Figura 1). Todos los participantes dieron su consentimiento en forma escrita.

Los sujetos incluidos firmaron consentimiento informado. Este proyecto fue aprobado por el comité de ética de la FCN- UAQ con número 85FCN2017 y fue llevado a cabo en dos poblaciones. En la **FASE 1** la muestra se utilizó para determinar la asociación del SNP MSTN K153R con la composición corporal a través de un estudio de casos y controles,

5.2 Criterios de inclusión y exclusión

En la primera fase las muestras de los participantes fueron obtenidas tanto del proyecto SU SALUD de la UAQ como del SPORT CITY, S.A de C.V. de acuerdo a los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

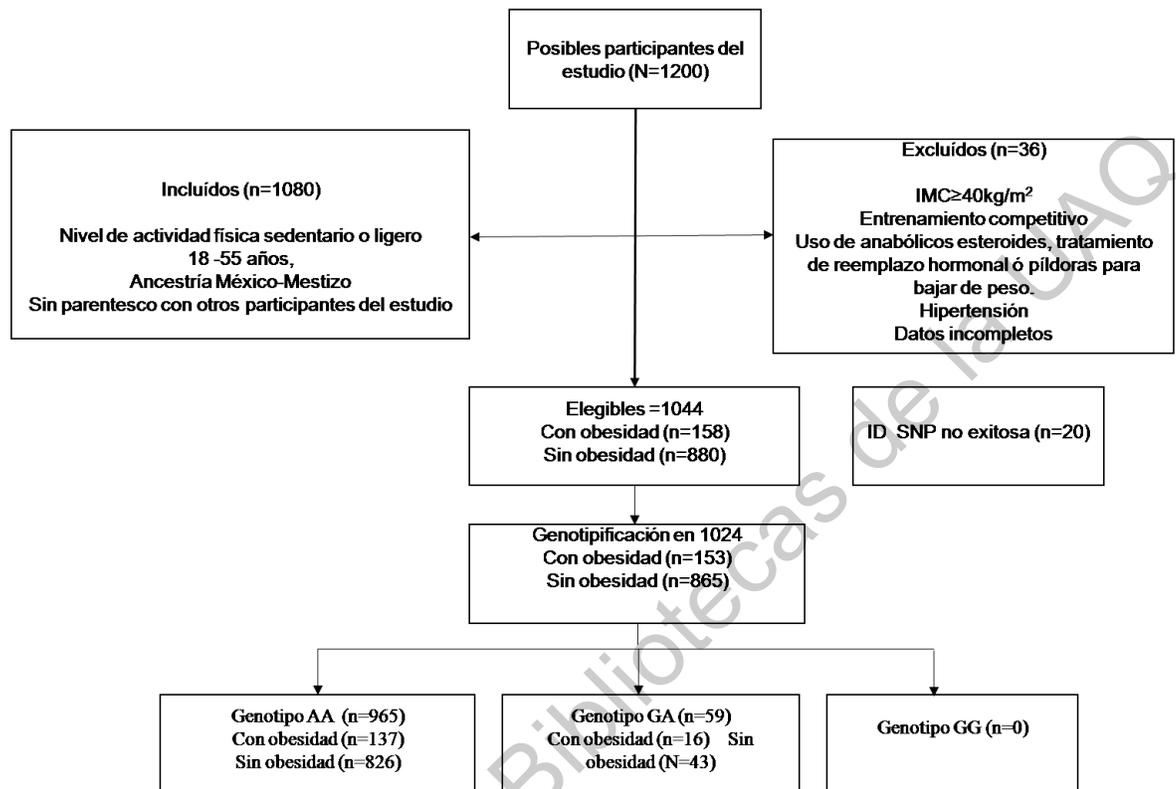


Figura 1. Diagrama de flujo de los participantes.

CRITERIOS DE SELECCIÓN FASE 1.

Inclusión	<ol style="list-style-type: none">1. Sedentarios y no-atletas2. Edad entre 18 y 50 años con la misma ancestría3. Hombres y Mujeres.
Exclusión	<ol style="list-style-type: none">1. Historia de fármacos anabolizantes, medicación para perder peso.2. Sujetos que ingieran terapia de reemplazo hormonal con testosterona y derivados o uso habitual glucocorticoides.3. Historia familiar o personal con alguna enfermedad genética que afecte a la masa muscular.4. Nivel de actividad física mayor a 1.6.
Eliminación	<p>Los que no cumplieron al llamado de mediciones.</p> <p>Los que iniciaron algún tipo de suplementación o fármacos que afectan la composición corporal.</p>

5.3 Parámetros evaluados en la FASE 1.

a. **Análisis de antropométrica y composición corporal.**

Las variables antropométricas que se determinaron en los participantes incluyeron a la estatura, peso y cintura, Las cuales se recolectaron siguiendo los métodos estandarizados de la Organización Mundial de la Salud (OMS). El análisis composición corporal se llevó a cabo mediante un equipo de bioimpedancia eléctrica SECA modelo mBCA 525, y los datos que se consideraron en este estudio fueron grasa corporal, masa muscular esquelética y agua corporal total.

b. **Parámetros bioquímicos:** a los participantes se le tomó una muestra de sangre de aproximadamente 5mL por venopuntura del brazo derecho en tubo vacutainer con anticoagulante NaEDTA para llevar a cabo una biometría hemática y evaluar los parámetros de anemia y citológicos de sangre. Los análisis se llevaron a cabo en un equipo automatizado Sysmex Mod XP300 (Sysmex corporation, Chuo-ku, Kobe, Japan). Se recolectó también otra muestra sanguínea de 5mL en tubo vacutainer sin anticoagulante para el análisis enzimático de las concentraciones séricas de glucosa y perfil de lípidos (colesterol total (Col), triglicéridos (TG), colesterol HDL y LDL), éstas determinaciones se hicieron en un equipo automatizado Mindray BS120 (medical International Limited, Shenzhen, China) Se determinó también la concentración de insulinas por medio de una determinación ELISA utilizando un kit comercial para insulina (ALPCO Diagnostics, Salem, NH).

c. **Determinación del nivel de actividad física.**

Se determinó el Nivel de Actividad Física según criterios de la American Diabetes Association seleccionando para este estudio a solo aquellos que tuvieron un nivel de actividad física (NAF) <1.6 (ADA, 2009).

d. **Evaluación del polimorfismo SNP MSTN K153R (rs180586).** el polimorfismo de nucleótido simples (SNP) de MSTN rs1805086 fue identificado usando sondas de hibridación TaqMan® en un microarreglo abierto (Applied Biosystems, Foster City, CA). La reacción de polimerasa (PCR) se llevó a cabo con el Kit Quant Studio System K12, con un volumen de muestra final de 5 uL y 15 ng de DNA genómico en Master Mix. Los productos de la PCR fueron analizados usando un el StepOne Software (Applied Biosystems, Waltham, MA). La confirmación de las muestras se llevó a cabo en el 10% del total de muestras en forma aleatoria y llevando a cabo la genotipificación por duplicado.

5.4 Análisis estadístico

Se llevaron a cabo los análisis de Mann Whitney y pruebas de Kruskal-Wallis para evaluar las diferencias entre las medias de las variables continuas antropométricas y de composición corporal de los participantes con obesidad y sin obesidad. La diferencia entre las variables de prevalencias se analizaron con pruebas de Chi cuadrada. Fueron obtenidos los percentiles 85, 90 y 95 de las variables de antropometría y composición corporal y se volvió a realizar un análisis de su distribución por genotipo. Diferencias en las características generales acorde con el IMC fueron analizadas con el test Kruskal-Wallis, mediana y chi square. Test de Fisher fue usado para evaluar el equilibrio de Hardy Weinberg. Frecuencias alélicas y genotípicas se compararon entre sujetos con obesidad y sin obesidad utilizando el test de Chi- X^2 . Para estimar la asociación entre los genotipos y los parámetros de obesidad, se utilizó el Odd Ratio (OR) crudo y ajustado al 95% del intervalo de confianza. Para el ajuste de homogeneidad se hizo como el Mantel-Haenszel test. El poder estadístico se desarrolló usando la prevalencia reportada en la Encuesta Nacional de Nutrición ENSANUT 2016 (Shamah *et al.* 2016) usando el software Quanto. Los cálculos fueron desarrollados usando el modelo aditivo con la

frecuencia del SNP observada en el estudio (0.03). Nuestro estudio tuvo un 80% de poder estadístico para detectar un $OR \geq 2.0$. Valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo. Para los análisis se utilizó el software SPSS (v.23.0).

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

VI. RESULTADOS

6.1 FASE 1: FRECUENCIA DEL rs1805086 DE MSTN Y SU ASOCIACIÓN CON LA COMPOSICIÓN CORPORAL

Parámetros clínicos de la población

El cuadro 1 resume los parámetros clínicos de todos los participantes. Como era de esperar, la mayoría de las características eran diferentes entre los grupos de IMC. En general, en comparación con los no obesos (18,0-29,99 kg/m²), el grupo obeso tenía niveles más altos de masa grasa total y regional, glucosa, insulina, HOMA-IR, TG, Col, LDL pero niveles más bajos de HDL.

Cuadro 1. Características generales de los participantes

Variable	Todos (n=1024)	Sin obesidad* (n=865)	Con obesidad* (n=159)
Cintura, cm	81.8 (56.6-144.0)	79.0 (56.6-111.1)	101.0 (79-144.0) ¹
ICE	0.49 (0.35-0.88)	0.47 (0.35-0.66)	0.6 (0.48-0.86) ¹
MG (%)	23.9(6-48.0)	24.9(6-48.0)	31.4(20.6-47.8) ¹
IMG (kg/m ²)	6.2(1.1-24.9)	5.7(1.1-14.1)	10.4(3.4-18.4) ¹
Glucosa (mg/dL)	85.4(48.6-172)	84.7(48.6-172.0)	91.0(52-143) ¹
Insulina (mmol/L)	6.9(1.01-59.6)	6.6(1.01-59.5)	12.8(1.9-39.4) ¹
HOMA-IR	1.4(1.1-11.9)	1.3(0.2-11.9)	2.8(0.4-8.6) ¹
Triglicéridos (mg/dL)	102.4(25.7-600.0)	97.0(25.7-590.0)	151.2(45.3-600.0) ¹
LDL (mg/dL)	83.0(16.0-192.9)	82.2(21.8-98.5)	92.6(52.0-192.9) ¹
Colesterol (mg/dL)	160.3(83.7-315.0)	159.4(83.7-315.0)	166.0(94.7-301.0) ¹
HDL (mg/dL)	49.5(21.8-100.9)	50.8(21.8-98.5)	43.0(23.8-82.1) ¹
<p>Se aplicaron los análisis de Mann-Whitney, mediana y Chi-X². ICE: Índice cintura/estatura; MG%: Porcentaje de masa grasa; HOMA-IR: Modelo homeostático de evaluación de la Resistencia a la insulina.LDL: Lipoproteínas de baja densidad; HDL: Lipoproteínas de alta densidad.</p> <p>*Sin obesidad (BMI 18.0-29.9kg/m²) Con obesidad (BMI 30.0-40.0kg/m²)</p> <p>¹valor de $p < 0.001$ para mostrar diferencias entre grupos.</p>			

Genotipo rs1805086

La frecuencia rs1805086 para el alelo ancestral (A) fue del 97% y para el alelo raro (G) fue del 3%, mientras que la frecuencia heterocigótica (AG) fue del 5,4% (Cuadro 2). El genotipo homocigótico del alelo raro (GG) estaba ausente en nuestra población. Se observó que las frecuencias genotípicas rs1805086 estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$) y que las tasas de genotipado estaban por encima del 99% con una tasa de concordancia de genotipado $> 99\%$.

Asociación entre rs1805086 y obesidad.

El genotipo de heterocigoto rs1805086 se encontró que estaba significativamente relacionado con la obesidad (Cuadro 3). En general, los sujetos heterocigóticos eran más pesados y gordos. Por el contrario, los genotipos rs1805086 no se asociaron a alteraciones metabólicas como TG elevado y Col elevado o bajo HDL-C, intolerancia a la glucosa o alteraciones de insulina (datos no mostrados).

Los heterocigotos mostraron el doble de riesgo de tener obesidad en comparación con los homocigóticos (Cuadro 4). En consecuencia, los sujetos heterocigotos presentaron un mayor riesgo de obesidad general y central, en comparación con los participantes homocigotos para el alelo ancestral. Estos valores se mantuvieron y no cambiaron significativamente después del ajuste para el sexo, edad, triglicéridos, colesterol, LDL-C, HDL-C, glucosa e insulina (Figura 2).

Cuadro 2. Frecuencias alélicas y genotípicas del rs1805086.

	Todos (n=1024)	x ²	IMC>30kg/ m ² (n=159)	IMC<30kg/m ² (n=865)	x ²	ICE>0.5 (n=471)	ICE<0.5 (n=548)	x ²	MGE (n=471)	MGN (n=548)	x ²	IMG>p85 (n=471)	IMG<p85 (=548)	x ²
Alelo														
A	0.97	0.9	0.95	0.98	0.4	0.96	0.98	0.4	0.96	0.96	0.	0.96	0.97	0.2
G	0.03		0.05	0.02	7	0.04	0.02	4	0.04	0.04	5	0.04	0.03	9
Genotipos														
AA	0.95(965)		0.89(137)	0.95(826)		0.93(436)	0.96(524)		0.92(262)	0.93(502)		0.95 (145)	0.97(796)	
AG	0.05(59)		0.11(16)	0.05(43)		0.07(35)	0.04(24)		0.08(23)	0.07(38)		0.05(13)	0.03(46)	
GG	ND		-	-		-	-		-	-		-	-	

Para frecuencias alélicas se aplicó el test de Herdy-Weinberg. IMC: Índice de masa corporal; MGE: Porcentaje de Masa grasa elevada; MGN: Porcentaje de masa grasa normal; IMG: Índice de Masa Grasa. ND: No detectado.

Cuadro 3. Asociación de los genotipos del rs1805086 con los parámetros de obesidad.

Variable	Todos, n=1024 \bar{x} (95%CI)	Genotipo		p
		AA, n=965 \bar{x} (95%CI)	AG, n=59 \bar{x} (95%CI)	
Peso (kg)	67.0 (38.0-146.0)	67.0 (38.0-146.0)	70.4 (42.0-106.0)	0.202
Cintura (cm)	81.8(56.6-144.0)	81.5 (56.6-144.0)	85.4 (59.2-110.0)	0.118
IMC (kg/m ²)	24.4(15.2-51.2)	24.4 (15.2-51.2)	26.3 (17.1-35.4)	0.027
ICE	0.49(0.35-0.88)	0.49 (0.38-0.88)	0.52 (0.35-0.68)	0.044
MG%	26.4(6.0-47.8)	26.4 (6.0-47.8)	27.5 (8.5-42.8)	0.093
IMG (kg/m ²)	6.5 (1.1-18.4)	6.1 (1.1-18.4)	6.6 (1.4-16.3)	0.087

IMC: Índice de masa corporal; ICE: Índice cintura/estatura; MG%: Porcentaje de masa grasa; IMG: Índice de masa grasa. Valor de p significativa fue considerado al 0.05. Para analizar diferencias entre genotipos se aplicó el test de Kruskal-Wallis; se reporta mediana e IC al 95%.

Cuadro 4. Asociación de los genotipos del rs1805086 con los parámetros de obesidad.

Variable	Genotipo	Con obesidad n(%)	Sin obesidad n(%)	OR crudo (IC 95%)	p- crudo	OR ajustado* (IC 95%)	p- ajustado*
IMC(kg/m²)	AA	47 (4.9)	918 (95.1)	2.35 (1.29-4.29)	0.006	2.3 (1.301-4.39)	0.012
	AG	6 (10.1)	53 (89.9)				
ICE	AA	41 (4.3)	924 (95.7)	2.03 (1.19-3.45)	0.012	2.07 (1.20-3.55)	0.011
	AG	6 (10.3)	53 (89.7)				
MG%	AA	46 (4.8)	919 (95.2)	1.72 (1.01-2.92)	0.033	1.9 (1.04-3.21)	0.043
	AG	7 (11.1)	52 (88.9)				
IMG(kg/m²)	AA	45 (5.2)	915 (94.8)	1.96 (1.05-3.68)	0.030	2.03 (1.06-3.91)	0.049
	AG	14 (9.7)	53 (90.3)				

IMC: Índice de masa corporal; ICE: Índice cintura/estatura; MG%: Porcentaje de masa grasa; IMG%: Índice de masa grasa. Para el OR ajustado se aplicaron los test de homogeneidad y Mantel-Haenzel. *OR fue ajustado por sexo, edad, LDL, triglicéridos, HDL y colesterol. $p < 0.05$ fue considerado como significativo.

Figura 2. ODDS-RATIO multi-ajustado (edad, sexo, TG, Colesterol, LDL, HDL, Insulina) e intervalos de confianza al 95% para la asociación de la del rs1805086 del gen MSTN en individuos con obesidad, considerando el grupo sin obesidad como control.

ICE: Índice cintura/estatura; MG: Masa Magra; IMG: Índice de Masa Grasa.

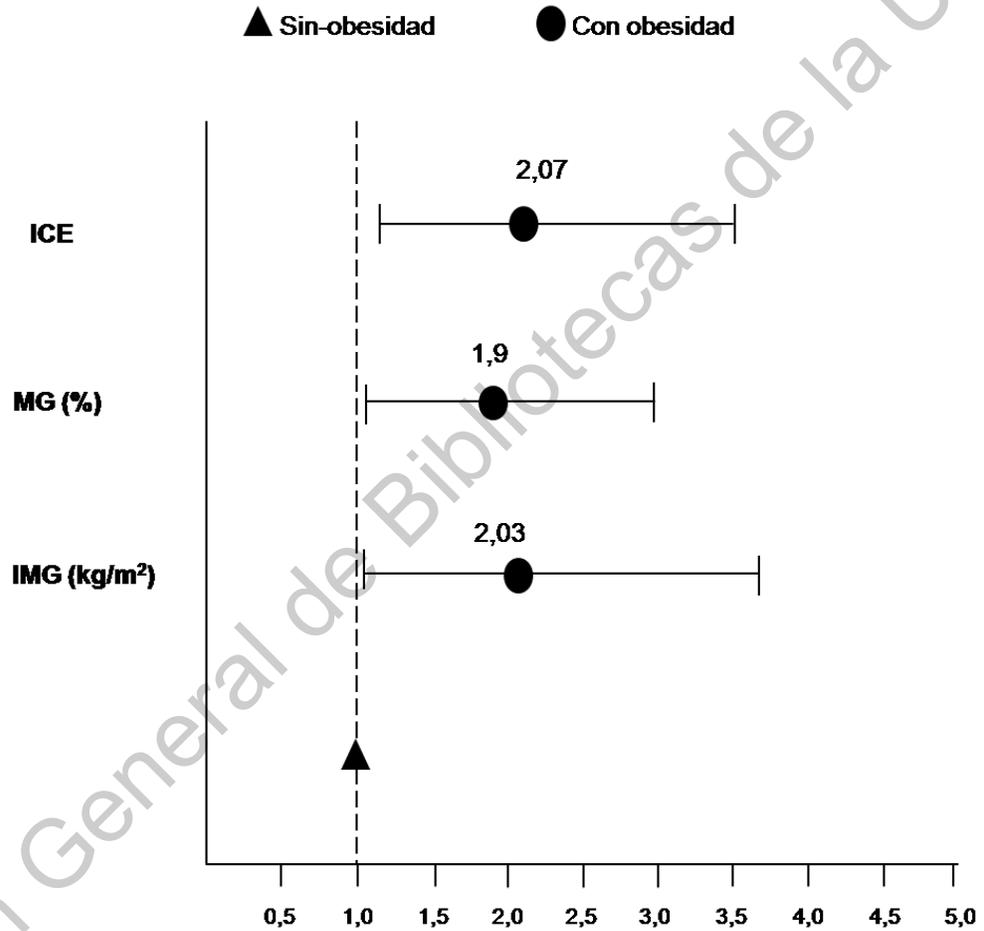
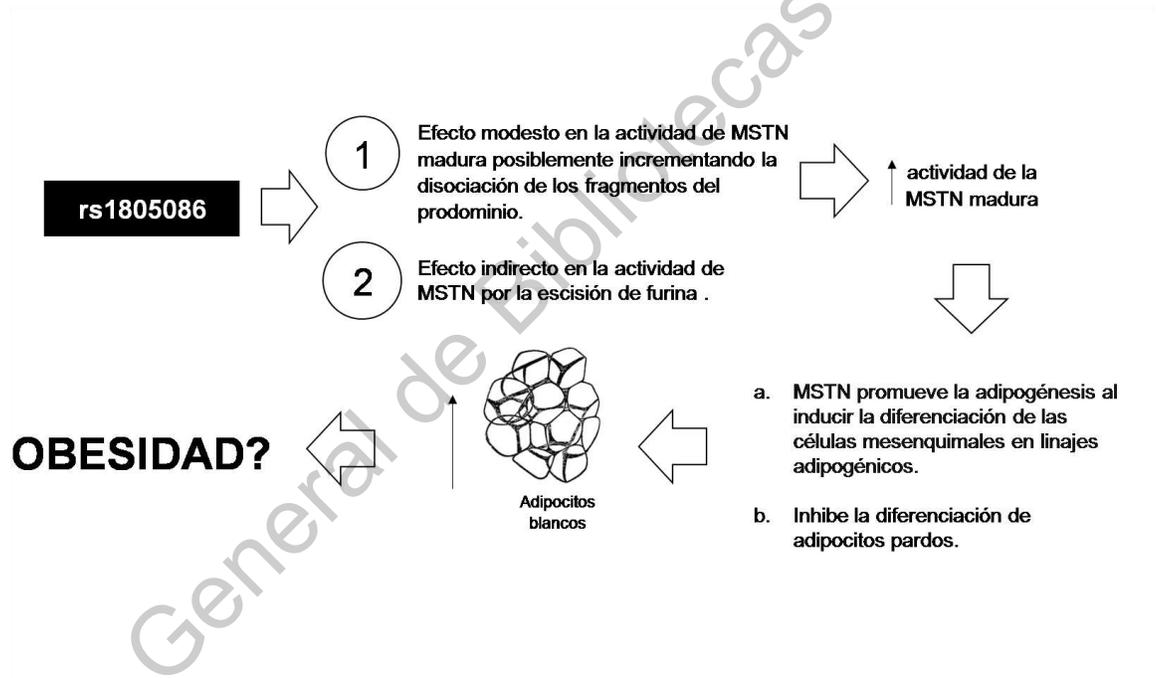


Figura 3. Modelo hipotético propuesta para la interacción entre el rs1805086 con el tejido adiposo. Esta figura muestra el modelo hipotético donde el rs1805086 puede influenciar positivamente el incremento del tejido adiposo en adultos no atletas. Los números indican las posibilidades para inducir el incremento de la forma activa de MSTN. El incremento de la forma madura de la MSTN puede afectar los mecanismos de diferenciación del tejido adiposo blanco. En consecuencia, los individuos con el rs1805086 pueden ser propensos a desarrollar exceso de tejido adiposo.



VII. DISCUSIONES

La frecuencia del polimorfismo rs1805086 fue baja (5%) en nuestra población adulta de estudio y no había sujetos homocigotos para el alelo raro (GG). Sin embargo, esta variante está muy presente en los africanos (>30%), mientras que en los no africanos está ausente o apenas por encima del 5% (Kostek et al., 2009). Además, la frecuencia del genotipo GG es muy baja en poblaciones no africanas (Fernández-Santander et al., 2012). Esto también se observó en algunas muestras de japoneses (Fuku et al., 2016). Aunque hay indicios debidos a la selección en la población africana ancestral, alguna forma de selección reciente podría haber jugado un papel significativo en la conformación de patrones de variación en el gen MSTN que podrían influir en la frecuencia de algunos SNP, como rs1805086 en otras poblaciones (Saunders, 2006).

En este estudio rs1805086 se asoció con la obesidad. Debido al papel de MSTN en la masa muscular, este SNP es un marcador candidato para el mapa genético humano del rendimiento y fenotipos de fitness relacionados con la salud. En los jóvenes no atletas caucásicos (españoles), la heterocigosidad se asoció positivamente a la potencia máxima (Santiago et al., 2011). En los jóvenes chinos no entrenados, los heterocigóticos eran más pesados, pero no más gordos antes y después de una intervención de entrenamiento de fuerza (Li et al., 2014). Hubo una posible asociación negativa entre el alelo G y una menor fuerza específica en mujeres mayores sanas y funcionales (Seibert et al., 2001). En un estudio multiétnico en adultos jóvenes no entrenados, los portadores de alelo G tenían mayor tamaño muscular y respuesta al entrenamiento de resistencia sólo en afroamericanos (Kostek et al., 2009). No obstante, la baja presencia del alelo G y especialmente de la frecuencia del genotipo GG en poblaciones no africanas podría limitar el poder estadístico y, por lo tanto, estos hallazgos deben tomarse con precaución.

Por otro lado, el SNP rs1805086 no se ha reportado previamente relacionado con la obesidad en hispanos o en una población mexicana. En nuestro estudio, encontramos una asociación positiva entre este SNP y todos los parámetros de obesidad estudiados. Hasta donde se sabe, la relación positiva entre rs1805086 y el índice de masa corporal (IMC) se ha reportado sólo en un estudio realizado en asiático-indios (Bhatt et al., 2012). Por lo tanto, rs1805086 puede estar relacionado con el peso, la grasa corporal y la respuesta al ejercicio y podría ser dependiente de la etnia.

El percentil 85 del índice de masa grasa (IMG) con un valor de 9.4 kg/m² fue superior a los valores de corte de obesidad empleados para determinar la obesidad en adultos mexicano-estadounidenses (8 kg/m²) (Peltz et al., 2010). El valor del 85% para el IMG también fue superior al valor propuesto para la obesidad proporcional en adultos coreanos (8.8 kg/m²) (Kim et al., 2011). Considerando la predisposición a la obesidad abdominal en los mexicanos, la relación cintura-estatura (ICE) fue incluido como un indicador de la adiposidad central. Del mismo modo, la relación entre el ICE asociada con rs1805086 fue menor (≥ 0.5 frente a ≥ 0.58) que otras utilizadas para probar la asociación entre parámetros antropométricos y alteraciones metabólicas en adultos colombianos (Mora-García et al., 2014).

En este estudio, la presencia de heterocigosidad se asoció con la obesidad. Es bien sabido que la inhibición de la MSTN induce hipertrofia e hiperplasia en las células musculares esqueléticas. Su papel en la regulación de la masa grasa corporal es menos estudiado y comprendido. Clásicamente, los mecanismos moleculares que explican el papel de la MSTN en la masa muscular se centran en las consecuencias metabólicas y fisiológicas de su inhibición, tales como: un aumento de la masa muscular y una disminución de la grasa corporal (Lee, 2004). Sin embargo, el papel estructural de los polimorfismos MSTN, al igual que rs1805086, en la predisposición a la gordura u obesidad probablemente podría estar relacionado con la actividad de la MSTN madura de una manera indirecta (Figura

3). A este respecto, las pruebas actuales sugieren dos posibles mecanismos. La primera es que la promiostatina es uno de los reguladores negativos de la miostatina (Lee & Mc Pherron, 2001). LA variante rs1805086 de MSTN parece hacer promiostatina más susceptible al ataque en furina. Este ataque aumenta la liberación de miostatina madura en su forma latente por la proteína morfogenética ósea 1/proteasas toloides (Szláma et al., 2014). Si aumenta la actividad de la MSTN madura, su unión al receptor Act1IB podría permitirse con la consiguiente disminución en no expresión de genes relacionados con la masa muscular (Babcock et al., 2015).

El segundo mecanismo propuesto es el papel de la MSTN en la adipogénesis. Dado que el músculo y el tejido adiposo (TA) se desarrollan a partir de las mismas células madre mesenquimales (Di Rocco et al., 2006), la investigación también se ha centrado en su papel en TA. La MSTN parece inhibir la adipogénesis en preadipocitos, mientras que promueve la adipogénesis en células madre humanas pluripotentes (Deng et al., 2017). De hecho, la inhibición de la MSTN puede modular la diferenciación y el aumento de los adipocitos sensibles a la insulina (Feldman et al., 2006; Li et al., 2016). Aunque los niveles de MSTN que indican en TA son normalmente bajos, la expresión génica de MSTN es mayor en el adipocito maduro (Mc Pherron, 2010). Además, la MSTN induce el aumento de TA marrón a expensas del TA blanco, probablemente a través de un mecanismo mediado por el músculo esquelético (Yang et al., 2014). Por lo tanto, parece que las funciones de la MSTN son diferentes durante las etapas de determinación y diferenciación de la adipogénesis (Huang et al., 2011).

Con respecto al efecto de la MSTN sobre alteraciones metabólicas, se ha demostrado que los miocitos en ratones con MSTN-null muestran una mayor sensibilidad a la insulina (Guo et al., 2008). Ciertamente, uno de los mecanismos por los cuales los niveles de MSTN pueden inducir resistencia a la insulina es inhibiendo la expresión GLUT4 y la acción de insulina en los miocitos esqueléticos

(Liu et al., 2018). Por otro lado, estudios en animales y humanos muestran que los sujetos obesos muestran niveles más altos de mRNA y proteína MSTN sérica en comparación con los sujetos magros. Además, después de un programa de pérdida de peso, los niveles de MSTN disminuyeron (Ryan et al., 2013). En sujetos obesos los niveles de MSTN se asocian a la obesidad, resistencia a la insulina y marcadores de inflamación (Hittel et al., 2009) y la sobreproducción de MSTN parece generarse en músculo esquelético a partir de sujetos obesos por mecanismos que requieren una investigación adicional (Amor et al., 2019). En nuestra muestra la heterocigosidad estaba relacionada con la obesidad y no se encontró asociación con alteraciones metabólicas como hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hiperglucemia o hiperinsulinemia. Para dos variantes de la MSTN (polimorfismos A55T y K153R), una población del norte de la India mostró un mayor riesgo de obesidad y grasa abdominal, pero los niveles de insulina y HOMA-IR no fueron diferentes (Bhatt et al., 2012). Mientras que SNP de rs1805086 parece aumentar el riesgo de obesidad mediante el aumento de la actividad de la MSTN madura, los efectos netos de MSTN en el desarrollo de la obesidad y su asociación con alteraciones metabólicas como la resistencia a la insulina, pueden ser modulados por la energía y el estado metabólico de los miocitos esqueléticos y adipocitos. Estos resultados probablemente sugieren que los niveles de MSTN podrían ser utilizados como un parámetro biológico de los cambios metabólicos y de composición corporal o de estado fisiológico (es decir, músculo vs. masa grasa), en lugar de una causa directa de alteraciones metabólicas. Se deben realizar más investigaciones en obesidad extrema y obesidad sarcopénica con diferentes genotipos MSTN.

VIII. CONCLUSIONES FASE 1.

En conclusión, se necesitan más pruebas para comprender el papel del polimorfismo de la MSTN rs1805086 en la predisposición a la obesidad. Además, se requieren más estudios sobre las vías moleculares y las diferencias entre las poblaciones para mostrar los efectos MSTN sobre la regulación de la grasa y la masa muscular. Dado que otros SNPS de MSTN se han encontrado relacionados con la obesidad (Yue et al., 2012), la investigación sobre estos SNPs y sus interacciones con otros genes, así como el entorno genético (estilo de vida) también deben realizarse en diferentes poblaciones. Teniendo en cuenta la baja frecuencia rs1805086 en poblaciones no africanas, incluidos los mexicanos, este estudio podría ser útil para facilitar la identificación de sujetos con esta variante de MSTN con fines epidemiológicos o de investigación de intervención.

IX. REFERENCIAS

1. Amor, M. Itariu B.K., Moreno-Viedma, V., Keindl, M., Jürets, A., Prager, G., Langer, F., Grablowitz, V., Zeyda, M., Stulning, T.M. (2019). Serum myostatin is upregulated in obesity and correlates with insulin resistance in humans. *Exp. Clin. Endocrinol Diabetes*. 127(8):550-556. DOI: 10.1055/a-0641-5546.
2. Babcock, L. W., Knoblauch, M., & Clarke, M. S. F. (2015). The role of myostatin and activin receptor IIB in the regulation of unloading-induced myofiber type-specific skeletal muscle atrophy. *Journal of Applied Physiology*. 119(6), 633–642. DOI:10.1152/jappphysiol.00762.2014.
3. Bhatt, S. P., Nigam, P., Misra, A., Guleria, R., Luthra, K., Jain, S. K., & QadarPasha, M. A. (2012). Association of the Myostatin gene with obesity, abdominal obesity and low lean body mass and in non-diabetic Asian Indians in north India. *PloS One*. 7(8), e40977. DOI:10.1371/journal.pone.0040977.
4. Carvalho, L.P., Basso-Vanelli, R.P., Di Thommazo-Luporini, L., Mendes, R.G., Oliveira-Junior, M.C., Vieira, R.P., Bonjorno-Junior, J.C., Oliveira, C.R., Luporini, R., & Borghj-Silva, A. (2018). Myostatin and adipokines. The role of the metabolically unhealthy obese phenotype in muscle function and aerobic capacity in young adults. *Cytokine*_107:118-124. DOI: 10.1016/j.cyto.2017.12.008.
5. Deng, B., Zhang, F., Wen, J., Ye, S., Wang, L., Yang, Y., Gong, P., & Jiang, S. (2017). The function of myostatin in the regulation of fat mass in mammals. *Nutrition & Metabolism*. 14:29. DOI:10.1186/s12986-017-0179-1.
6. Di Rocco, G., Iachinoto, M. G., Tritarelli, A., Straino, S., Zacheo, A., Germani, A., Capogrossi, M. C. (2006). Myogenic potential of adipose-tissue-derived cells. *Journal of Cell Science*. 119(14), 2945–2952. DOI:10.1242/jcs.03029.
7. Feldman, B.J., Streeper, R.S., Farese, R.V., Yamamoto, K.R. (2006). Brian J. Myostatin modulates adipogenesis to generate adipocytes with favorable metabolic effects. *PNAS*. 103(42): 15675-80. DOI:10.1073/pnas.0607501103.

8. Fernández-Santander A, Valveny N, Harich N, Kandil M, Luna F, Martín MA, Rubio JC, Lucia A, Gaibar M. (2012). Polymorphisms influencing muscle phenotypes in North-African and Spanish populations *Annals of Human Biology*.39(2): 166–169. DOI: 10.3109/03014460.2012.657243.
9. Fuku, N., Yvert, T., Zempo, H., Naito, H., Abes, Y., Arai, Y., Murakami, H., Miyachi, M., Pareja-Galeano, H., Emanuele, E., Hirose, N., & Lucía, A. (2016). Muscle-Related Polymorphisms (MSTN rs1805086 and ACTN3 rs1815739) are Not Associated with Exceptional Longevity in Japanese Centenarians. *PLoS One*.11,11:e0166605. DOI:[10.1371/journal.pone.0166605](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166605).
10. Gallagher, D., Heymsfield, S.B., Heo, M., Jebb, S.A., Murgatroyd, P.R., Sakamoto, Y. (2000). Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J of Clin Nut.* 72(3); 694-701. DOI: [10.1093/ajcn/72.3.694](https://doi.org/10.1093/ajcn/72.3.694).
11. Gesta, S., Tseng YH., Kahn, CR. (2007). Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*. 131 (2):242-56. DOI: [10.1016/j.cell.2007.10.004](https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.004).
12. Guo, W., Flanagan, J., Jasuja, R., Kirkland, J., Jiang, L., & Bhasin, S. (2008). The effects of myostatin on adipogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells are mediated through cross-communication between Smad3 and Wnt/beta-catenin signaling pathways. *The Journal of biological chemistry*. 283(14), 9136-45. DOI:[10.1074/jbc.M708968200](https://doi.org/10.1074/jbc.M708968200).
13. Herrera, B. M., & Lindgren, C. M. (2010). The genetics of obesity. *Current diabetes reports*. 10(6), 498–505. DOI:[10.1007/s11892-010-0153-z](https://doi.org/10.1007/s11892-010-0153-z).
14. Hittel, D.S., Berggre, J.R., Shearer, J., Boyle, K., Coumerd, J.A. (2009). Increased Secretion and Expression of Myostatin in Skeletal Muscle From Extremely Obese Women. *Diabetes*. 58: 30-38. DOI:[10.2337/db08-0943](https://doi.org/10.2337/db08-0943).
15. Huang, Z., Chen, X., & Chen, D. (2011). Myostatin: A novel insight into its role in metabolism, signal pathways, and expression regulation. *Cellular Signalling*. 23(9), 1441–1446. DOI:[10.1016/j.cellsig.2011.05.003](https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.05.003).
16. Kostek, M.A., Angelopoulos, T.J., Clarkson, P.M., Gordon, P.M., Moyna, N.M., Visich, P.S., Zoeller, R.F., Price, T.B., Seip, R.L., Thompson, P.D., Devaney, J.M., Gordish-Dressman H., Hoffman, E.P., & Pescatello, L.S. (2009). Myostatin and follistatin polymorphisms interact

with muscle phenotypes and ethnicity. *Med Sci Sports Exerc.* 41:1063–71. DOI:[10.1249/MSS.0b013e3181930337](https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3181930337).

17. Lee SJ. (2004). Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 20:61–86. DOI:[10.1146/annurev.cellbio.20.012103.135836](https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.20.012103.135836).
18. Lee, Se-Jin., & McPherron, A. (2001). Regulation of myostatin activity and muscle growth. *PNAS.* 98(16): 9306-9311; DOI:[10.1073/pnas.151270098](https://doi.org/10.1073/pnas.151270098).
19. Li, N., Yang, Q., Walker, r.G., Thompson, T.B., du, M., & Rodgers, B.D. (2016). Myostatin Attenuation In vivo Reduces Adiposity, but Activates Adipogenesis. *Endocrinology.* 157(1), 282-291. DOI: [10.1210/EN.2015-1546](https://doi.org/10.1210/EN.2015-1546).
20. Li, X., Wang, S.J., Tan, S.C., Chew, P.L., Liu, L., Wang, L., Wen, L., & Ma, L. (2014). The A55T and K153R polymorphisms of MSTN gene are associated with the strength training-induced muscle hypertrophy among Han Chinese men. *J Sports Sci.* 32(9):883-91. DOI:[10.1080/02640414.2013.865252](https://doi.org/10.1080/02640414.2013.865252).
21. McPherron, A.C. (2010). Metabolic functions of myostatin and GDF11. *Immunology, endocrine & metabolic agents in medicinal chemistry.* 10(4), 217-231 DOI: [10.2174/187152210793663810](https://doi.org/10.2174/187152210793663810).
22. Mora-García, G.J., Gómez-Camargo, D., Mazonett, E., Alario, A., Fotich, A., Gómez-Alegría CG. (2014). Anthropometric parameters cut-off points and predictive value for metabolic syndrome in women from Cartagena, Colombia. *Salud Pública de México.* 56:2:146-153. DOI: [10.21149/spm.v56i2.7330](https://doi.org/10.21149/spm.v56i2.7330).
23. Peltz, G., Aguirre, M. A., Sanderson, M., Fadden, M. K. (2010). The role of fat mass index in determining obesity. *Am J Hum Biol.* 22(5): 639–647. DOI:[10.1002/ajhb.21056](https://doi.org/10.1002/ajhb.21056).
24. Ryan, A.S., Li, G., Blumenthal, J.B., Ortmeyer, H.K. (2013). Aerobic exercise + weight loss decreases skeletal muscle myostatin expression and improves insulin sensitivity in older adults. *Obesity (Silver Spring).* 21(7): 1350–1356. DOI:[10.1002/oby.20216](https://doi.org/10.1002/oby.20216).
25. Santiago, C., Ruiz, J.R., Rodríguez, G., Fiuza, L., Yvert, T., González, M., Gómez, F., Morán, M., & Lucia, A. (2011). The K153R Polymorphism in the Myostatin Gene and Muscle Power Phenotypes in Young, Non-Athletic Men. *Men. PLoS One.* 6,1:e16323. DOI:[10.1371/journal.pone.0016323](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016323).

26. Saunders, M. A., Good, J. M., Lawrence, E. C., Ferrell, R. E., Li, W. H., & Nachman, M. W. (2006). Human adaptive evolution at Myostatin (GDF8), a regulator of muscle growth. *American Journal of Human Genetics*. 79(6), 1089-97. DOI:[10.1086/509707](https://doi.org/10.1086/509707).
27. Kim, CH., Chung, S., Kim, H., Park, JH., Park, S.H., Ji, JW., Han, S.W., Lee, J.C., Kim, J.H., Park, Y.B., Nam, H.S., Kim, C. (2011). Norm references of fat-free mass index and fat mass index and subtypes of obesity based on the combined FFMI-%BF indices in the Korean adults aged 18-89 yr. *Obesity Research & Clinical Practice*. 5, e210-e219. DOI: [10.1016/j.orcp.2011.01.004](https://doi.org/10.1016/j.orcp.2011.01.004).
28. Seibert, M.J., Xue, Q.L., Fried, L.P., & Walston, J.D. (2001). Polymorphic Variation in the Human Myostatin (GDF-8) Gene and Association with Strength Measures in the Women's Health and Aging Study II Cohort. *J Am Geriatr Soc*. 49:1093-96. DOI:[10.1046/j.1532-5415.2001.49214.x](https://doi.org/10.1046/j.1532-5415.2001.49214.x).
29. Shamah, T., Cuevas, L., Rivera, J., y Hernández, M. (2016). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública 2016). <http://ensanut.insp.mx> Accessed 15 March 2019.
30. Solanki, J. D., Makwana, A. H., Mehta, H. B., Gokhale, P. A., & Shah, C. J. (2015). Body Composition in Type 2 Diabetes: Change in Quality and not Just Quantity that Matters. *International journal of preventive medicine*. 6, 122. DOI:[10.4103/2008-7802.172376](https://doi.org/10.4103/2008-7802.172376)
31. Szláma, G., Trexler, M., Buday, L., & Patthy, L. (2014). K153R polymorphism in myostatin gene increases the rate of promyostatin activation by furin. *FEBS Letters*. 589(3), 295-301. DOI:[10.1016/j.febslet.2014.12.011](https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.12.011).
32. Wang, D., Li, Y., Lee, S.G., Wang, L., Fan, J., Zhang, G., Wu, J., & Li, S. (2011). Ethnic Differences in Body Composition and Obesity Related Risk Factors: Study in Chinese and White Males Living in China. *PLoS One*. 6(5): e19835. DOI:[10.1371/journal.pone.0019835](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019835).
33. Woolcott, O.O., & Bergman, R.N. (2018). Relative fat mass (RFM) as a new estimator of whole-body fat percentage-A cross-sectional study in American adult individuals. *Scientific Reports*. 8(10980). DOI:[10.1038/s41598-018-29362-1](https://doi.org/10.1038/s41598-018-29362-1).
34. Yang, X., Bi, P., Kuang, S. (2014). Fighting obesity: when muscle meets fat. *Adipocyte*. 3:4, 280-289. DOI: [10.4161/21623945.2014.964075](https://doi.org/10.4161/21623945.2014.964075).

35. Yue, H., He, J.W., Zhang, H., Wang, C., Hu, W.W., Gu, J.M., Ke, Y.H., Fu, W.Z., Hu, Y.Q., Li, M., Liu, Y.J., Wu, S.H., ... Zhang, Z.L. (2012). Contribution of myostatin gene polymorphisms to normal variation in lean mass, fat mass and peak BMD in Chinese male offspring. *Acta Pharmacologica Sinica*. 33(5), 660-7. DOI:[10.1038/aps.2012.12](https://doi.org/10.1038/aps.2012.12).

Dirección General de Bibliotecas de la UAQ

FASE 2: EL ENTRENAMIENTO SISTEMÁTICO Y NO SISTEMÁTICO, Y SU EFECTO EN MARCADORES ENDOCRINOS Y MUSCULARES

V. MATERIALES Y METODOS FASE 2

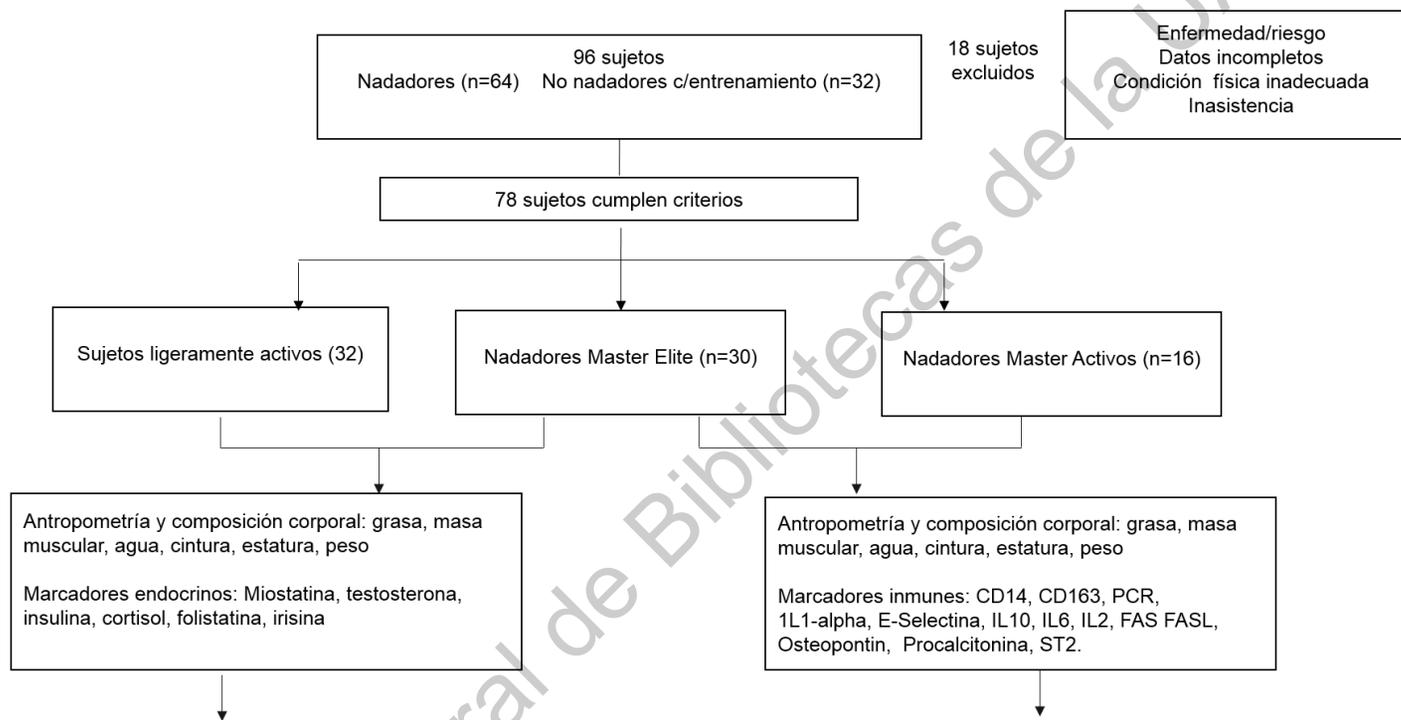
6.5 Participantes y diseño experimental

Este estudio transversal descriptivo y de asociaciones se realizó en 62 adultos de entre 30 y 60 años (27 ± 2.8 años) divididos en dos grupos: el grupo con entrenamiento sistemático (ES) y el grupo sin entrenamiento sistemático (ENS). Los criterios de exclusión fueron antecedentes familiares de distrofia muscular, enfermedades neuromusculares, Diabetes tipo 2, uso de esteroides anabólicos, $IMC \geq 30 \text{ m}^2/\text{kg}$ y presentar sarcopenia (cuadro 5). El grupo de ES tenía un nivel de actividad física (NAF) ≥ 1.6 , con un total ≥ 450 min/semana de ejercicio, eran nadadores máster que se entrenaban bajo un sistema de tolerancia láctica dos veces por semana y practicando esta actividad al menos durante 5 años previos.. El grupo de Entrenamiento No Sistemático (ENS) tenía un $NAF \leq 1.5$ e hizo ejercicio aeróbico ≤ 180 min/semana. Este estudio fue aprobado por el comité de ética del Departamento de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro. Antes de su inclusión en el estudio, todos los participantes proporcionaron su consentimiento informado por escrito. Para esta **FASE 2** la muestra de participantes fue obtenida de dos fuentes: trabajadores de la UAQ y nadadores máster pertenecientes a la Asociación Queretana de Natación y a la Federación Mexicana de Natación que cumplieron como los criterios de exclusión (**Figura 4**).

CRITERIOS DE SELECCIÓN FASE 2.

Inclusión	<ol style="list-style-type: none">1. Personas activas entre 25 y 50 años2. entrenamiento sistemático de al menos 8hs de actividad moderada-intensa (ADA, 2016)3. Personas inactivas
Exclusión	<ol style="list-style-type: none">1. Historia de fármacos anabolizantes o suplementos deportivos con sustancias consideradas como prohormonas o estimulantes prohibidos según la WADA o estén en la lista de suplementos milagros que emite la COFEPRIS en los 2 años anteriores al estudio.2. Antecedentes de participación en fisicoconstructivismo.3. Sujetos que ingieran terapia de reemplazo hormonal con testosterona y derivados o uso habitual glucocorticoides.4. Historia familiar o personal con alguna enfermedad genética que afecte a la masa muscular.5. Obesidad, diabetes ó hiperlipidemias6. Insuficiencia proteica o energética.
Eliminación	<ol style="list-style-type: none">1. Los que no cumplieron el llamado de mediciones.2. Los que iniciaron algún tipo de suplementación o ayudas ergogénicas no permitida o fármacos que afecten la composición corporal.

Figura 2. Diagrama de flujo de los participantes de estudio fase dos.



Artículo tres: El entrenamiento sistemático en nadadores máster incrementa los niveles séricos del Factor de Crecimiento Similar a Insulina y disminuyen los de Miostatina e Irisina

Artículo cuatro: El entrenamiento sistemático en nadadores máster incrementa los niveles séricos del Factor de Crecimiento Similar a Insulina y disminuyen los de Miostatina e Irisina

6.7 Parámetros evaluados en la FASE 2.

a. Evaluación antropométrica y de composición corporal

Todas las mediciones antropométricas se tomaron en condiciones de ayuno, mientras que los sujetos llevaban ropa ligera y no tenían zapatos. La estatura se midió hasta los 0.1 cm más cercano con un estadiómetro independiente SECA. El peso fue llevado a los 100g más cercanos con escalas digitales. La circunferencia de la cintura (CC) se midió colocando una cinta de medición alrededor de la cintura justo por encima del borde lateral más alto de la cresta ilíaca durante la respiración mínima normal. Los parámetros de composición corporal como el índice de masa grasa (IMG), el índice de masa libre de grasa (IMLG) y el índice de masa muscular esquelética (IMMS) fueron medidos en un equipo de bioimpedancia con multifrecuencias SECA modelo mBCA525, usando la versión de software: 1.0 (SECA, Alemania). Las mediciones de composición corporal se tomaron en posición supina utilizando ocho electrodos en ambos lados mientras el sujeto está acostado en una superficie no conductora. Se utilizaron electrodos de gel con adhesivo (Kendall, H59P, Covidien Inc, Mansfield, MA, EE.UU.), los cuales se colocaron en sitios anatómicos definidos en las superficies dorsales de la mano, muñeca, tobillo y pie de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La duración de cada medición de impedancia bioeléctrica fue de 75 segundos. Las mediciones en la posición supina se tomaron en un lapso no mayor a 10 minutos una vez que el participante ya se encontraba recostado. A los participantes se les pidió que no realizaran ejercicio durante las 12 h previas a su evaluación y que no bebieran alcohol dentro de las 24 h antes de la medición de impedancia. Se utilizaron valores de resistencia (R) y reactancia (X_c) obtenidos a frecuencias de 50 kHz para las ecuaciones de predicción para estimar los parámetros de composición corporal. La masa grasa y la masa libre de grasa se normalizaron por la estatura en metros al cuadrado (kilogramos/altura²) para calcular el índice de masa grasa (IMG) y el índice de masa libre de grasa (IMLG), respectivamente. La sarcopenia se definió como $\leq 6.42\text{kg/m}^2$

y $\leq 8.87 \text{kg/m}^2$ de masa muscular esquelética en mujeres y hombres, respectivamente.

b. Análisis bioquímicos

e. Para las determinaciones de marcadores bioquímicos se obtuvieron 5 mL de sangre por venopunción del brazo de todos los participantes en tubos vacutainer con y sin anticoagulante. Las muestras de sangre fueron separadas por centrifugación a 500g por 10 minutos. Para análisis posteriores, el suero fue alícuotado en crioviales de 1.5 ml, etiquetados y almacenados a -70°C . Las muestras de suero de los participantes se utilizaron para cuantificar las concentraciones de glucosa (Glc), triglicéridos (TG), colesterol total (Chol), colesterol-LDL (LDL-C), colesterol-HDL (HDL-C) y VLDL (VLDL-C). Niveles séricos de parámetros endócrinos catabólicos de la masa muscular como miostatina, cortisol, así como anabólicos tales como folistatina, IGF-1, irisina, testosterona e insulina que se determinaron por ELISA.

Todas las determinaciones bioquímicas se realizaron por duplicado en un analizador Mindray BS 120 automatizado (Medical International Limited; Shenzhen, China), mediante pruebas colorimétricas enzimáticas de punto final. Además, se determinaron también las concentraciones séricas de insulina mediante el kit ELISA de insulina humana de plasma e inmunoensayos EDTA (ALPCO Diagnostics; New Hampshire, Estados Unidos).

Los niveles de miostatina sérica (MSTN) se midieron utilizando kits de inmunoensayos de 4 horas (ALPCO; Salem, NH, EE.UU.) según el protocolo incluido por el fabricante. Las muestras de suero se diluyeron 1:10 antes del ensayo. Las muestras se analizaron por duplicado. Se preparó una curva de calibración de ocho puntos mediante diluciones triples, comenzando con una

muestra estándar preparada y dos controles con rangos de concentración conocidos de 0.7-6.9 ng/mL y 7.0–17.0 ng/mL, respectivamente. La sensibilidad del ensayo fue de 0.37 ng/ml con el coeficiente intra e inter-ensayo de variabilidad (CV) inferior al 11%. La absorbancia se leyó mediante el uso de un lector de microplacas GloMax®-Multi Detection System (Promega Corporation, Madison, WI, EE.UU.) a 450 nm contra 620 nm como referencia. Los niveles séricos de folistatina (FSTN) se midieron mediante el kit Quantikine ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, EE.UU.) de 6 horas, siguiendo las indicaciones del protocolo de análisis del fabricante. Las muestras se analizaron por duplicado. También se preparó una curva de calibración de ocho puntos mediante diluciones triples, comenzando con una muestra estándar preparada de 16.00 pg/ml. La dosis detectable osciló entre 10 y 83 pg/mL con un valor promedio de 29 pg/mL. Las variaciones intra e inter-ensayo fueron inferiores al 3% y al 10%, respectivamente. La absorción fue leída usando un lector de microplacas glomax®-multi detection system (Promega Corporation, Madison, WI, EE.UU.) a 450 nm contra 560 nm como referencia. El kit del factor de crecimiento de insulina sérica-1 (IGF-I) (Quantikine® Minneapolis, MN, EE.UU.) en su procedimiento incorpora un pretratamiento de muestra para evitar interferencias de proteínas de unión. El límite mínimo de detección y la variabilidad intra e inter-ensayo para el kit ELISA IGF-1 fueron de 90 pg/mL, así como 6.7% y 6.8%, respectivamente. La medición de los niveles de cortisol sérico (COR) y testosterona (TEST) se llevaron a cabo utilizando el kit ELISA proporcionado por ALPCO; Salem, NH, Estados Unidos. La sensibilidad de los ensayos para cortisol y testosterona fueron 1.5 ng / mL y 0.07 ng / mL, respectivamente. La variación inter y la variación intra-ensayo para el cortisol y el testoster fueron de $\leq 15\%$, ≤ 8 y 10.5% , 5.8% , respectivamente. El IGF- 1 fue medido por un ensayo monoclonal inmunoenzimático (18). La sensibilidad del ensayo fue de 3.1 $\mu\text{g/L}$. Los valores de CV inter y intra-ensayo para IGF-1 fueron del 6.5% y del 7.2%, respectivamente.

Determinación del nivel de actividad física y entrenamiento.

Los participantes en ES fueron nadadores master bien entrenados con al menos 5 años previos de entrenamiento sistemático. Antes de las mediciones, este grupo emprendió un período de entrenamiento de 20 semanas, que consistía en sesiones aeróbicas y anaeróbicas mixtas de 450 minutos por semana, incluidas sesiones de tolerancia al ácido láctico dos veces por semana. Los estímulos ácidos lácticos ($\geq 80\%$ VO₂max) representaron entre el 15 y el 30% del entrenamiento de sesión. Este entrenamiento láctico fue monitoreado a través de mediciones de latidos cardíacos. El grupo ENS tenía un NAF ≤ 1.4 incluyendo 30 minutos no programados de ejercicio aeróbico 3 veces a la semana. El NAF se determinó utilizando los criterios American Diabetes Association (ADA; 2009).

Para determinar la condición física en el caso de los nadadores, se determinaron los tiempos en estilo libre realizados en 50 y 400m, así mismo se determinó el nivel de actividad física y la asistencia a entrenamiento.

6.8 Análisis estadístico FASE 2.

Todos los parámetros se muestran como las medias \pm error estándar (SE). Modelo lineal general Multivariado se realizó para analizar las diferencias en la composición corporal, parámetros bioquímicos y endocrinos ajustados por covariables. Se utilizaron correlaciones parciales para el análisis de la correlación entre la composición corporal y los marcadores endocrinos ajustados por sexo y edad. El límite de significancia se estableció en $p=0.05$ para todos los análisis.

Para el análisis de todos los datos se determinó la normalidad de los datos y pruebas de homocedasticidad. Para analizar las diferencias entre la composición corporal,

parámetros bioquímicos y marcadores endócrinos se hizo un análisis con modelos univariados y multivariados ajustados por covariables, así como correlaciones parciales entre la composición corporal y marcadores endócrinos. El poder estadístico fue considerado mayor al 80%. En cualquier caso, un valor de <0.05 fue considerado como significativo. Los análisis fueron hechos mediante el programa SPSS versión 23.0.

Dirección General de Bibliotecas de la URG

VI. RESULTADOS FASE 2

Características de los participantes

Los cuadros 6 y 7 resumen los parámetros clínicos de todos los sujetos que participaron en esta fase. Como era de esperar, la mayoría de las características generales fueron diferentes entre los grupos. Después de ajustar por sexo y edad el grupo ES tenía niveles más bajos de indicadores de grasa como ICE, Grasa visceral%, MG% e IMG, así como glucosa, HOMA-IR y TG, pero mayores niveles de HOMA-S y parámetros de magrez como MLG%, FFMI, MME e IMME en comparación con el grupo ENS.

Parámetros musculares por grupo

Marcadores anabólicos como la testosterona (TEST) y el factor de crecimiento de insulina (IGF-1) fueron más altos en el grupo ES, mientras que los parámetros catabólicos como miostatina (MSTN) y cortisol (COR) fueron más bajos en el grupo ES ($p < 0.001$) (Cuadro 8). Curiosamente, después de ajustar por edad, sexo y composición corporal, no hubo diferencias en los niveles de insulina y folistatina (FST). Además, a pesar de los niveles de COR, el índice de equilibrio anabólico-catabólico y estrés fisiológico fueron diferentes, lo que indica un estado anabólico predominante en el grupo ES ($p < 0.01$).

Los niveles séricos de la relación TEST, COR y TEST to COR (TEST/COR) fueron significativamente diferentes entre los grupos. Ambos niveles de TEST y COR fueron más altos en el grupo ES, pero la relación TEST/COR fue menor en este mismo grupo. FST e IGF-1, dos activadores fisiológicos fuertes de masa muscular, tenían una asociación negativa en ambos grupos. En particular, IMLG se asoció negativamente con la relación IGF-1 a MSTN en el grupo ENS (Figura 5), mientras que la relación FST a MSTN (FST/MSTN) se asoció negativamente con el grupo IGF-1 in ES (Figura 6).

Cuadro 5. Características antropométricas y de composición corporal de los participantes.

Variable	Todos (n=62)	ENS (n=32)	ES (n=30)	Valor ajustado P
Edad (años)	42.0 (11.7)	41.7 (10.6)	43.7 (12.9)	0.235
IMC (kg/m ²)	24.5 (2.7)	25 (2.7)	24 (2.6)	0.001
Cintura (cm)	87.7 (7.8)	89.6 (7)	85.6 (8.1)	0.0001
ICE	0.52 (0.04)	0.54 (0.42)	0.50 (0.39)	0.0001
GV%	3.4 (0.9)	3.8 (0.7)	3 (0.9)	0.001
MG (%)	29.6 (8.4)	33.9 (6.6)	24.2 (7.1)	0.0001
IMG (kg/m ²)	7.3 (2.7)	8.8 (2.6)	5.8 (2)	0.0001
MLG (%)	70.3 (8.4)	66.0 (6.6)	75.7 (7.1)	0.0001
IMLG (kg/m ²)	17.2 (2.1)	16.3 (1.4)	18.2 (2.3)	0.0001
MME (%)	33.1 (6.2)	30.0 (3.8)	36.5 (6.5)	0.0001
IMME (kg/m ²)	8.1 (1.9)	7.4 (1.1)	8.8 (2.3)	0.0001
TBW (%)	51.9 (6.4)	48.8 (4.6)	55.4 (6.4)	0.0001
ECW (%)	21.7 (2.1)	20.4(1.5)	23.1 (1.8)	0.0001
<p>Se presentan los valores de la Media y Desviación estándar. Análisis mediante el Modelo lineal general multivariado. IMC: índice de masa corporal; GV, grasa visceral; ICE: índice cintura estatura; MG%: Porcentaje de masa grasa; IMG: Índice de masa grasa; MLG %: Porcentaje de masa libre de grasa; IMLG: Índice de masa libre de grasa; MME%: Porcentaje de masa muscular esquelética; IMME: Índice de masa muscular esquelética;; ACE: Agua corporal extracelular; ACT: Agua corporal total ES: Entrenamiento sistemático, ENS: Entrenamiento no sistemático; TBW: Total Body Water; Valores ajustados de p <0.05 mostraron diferencias significativas entre el grupo ES y ENS.</p>				

Cuadro 6. Características bioquímicas de los participantes

Variable	Todos (n=62)	=ENS (n=32)	ES (n=30)	Valor de P ajustado
Leucocitos (x10 ³ /μL)	5.7 (1.5)	5.6 (1.1)	5.7 (1.8)	0.993
Eritrocitos (x10 ⁶ /μL)	4.7 (0.4)	4.8 (0.4)	4.7 (0.4)	0.00001
Hb (g/dL)	14.6 (1)	14.5 (1)	14.6 (1.1)	0.00001
Albumina (mg/dL)	4.5 (0.3)	4.7 (0.2)	4.4 (0.3)	0.00001
Glucosa (mg/dL)	82.4 (12.1)	88.5 (7.6)	76.0 (12.3)	0.00001
TG (mg/dL)	104.6 (48.2)	126.1 (52.8)	81.7 (29.2)	0.00001
LDL-C (mg/dL)	84.3 (25.3)	81.8 (25.7)	87.0 (25.1)	0.006
Col (mg/dL)	153.1 (26.5)	154.7 (23)	151.4 (30)	0.058
HDL-C (mg/dL)	48.5 (11.7)	47.8 (9.8)	49.3 (13.5)	0.00001

Se presentan los valores de la Media y Desviación estándar. Análisis mediante el Modelo lineal general multivariado. Hb: Hemoglobina; TG: Triglicéridos; LDL-C: Colesterol de baja densidad; HDL-C: Colesterol de alta densidad; Col: Colesterol. ENS: Grupo con entrenamiento no sistemático y ES Grupo con entrenamiento sistemático. Valores ajustados de p <0.05 mostraron diferencias significativas entre el grupo ES y ENS.

Cuadro 7. Parámetros endocrinos de los participantes.

Variable	Todos (n=62)	ENS (n=32)	ES (n=30)	Valor P ajustado
MSTN (ng/mL)	3.9 (1.4)	4.3 (1.5)	3.6 (1.3)	0.00001
FOL (ng/mL)	1.3 (0.3)	1.2 (0.2)	1.3 (0.4)	0.641
TEST (ng/dL)	2.6 (2.4)	1.9 (1.6)	3.2 (3)	0.00001
IGF-1 (ng/mL)	164.7 (46.5)	152.8 (33.1)	176.7 (54.8)	0.008
COR (µg/dL)	18.9 (6.7)	16.0 (4.4)	21.9 (7.4)	0.005
INS (µUI/mL)	4.4 (3.5)	5.2 (3.6)	3.7 (3.3)	0.769
HOMA-IR	0.9 (0.7)	1.1 (0.8)	0.7 (0.6)	0.022
HOMA-S	200.4 (79)	180.7 (78)	220.2 (77)	0.014
FST/MSTN (ng/mL)	0.37 (0.2)	0.33 (0.2)	0.41 (0.2)	0.08
TEST/ COR (ng/mL)	0.13 (0.007)	0.14 (0.007)	0.13 (0.1)	0.00001
TEST/MSTN (ng/mL)	0.65 (0.6)	0.44 (0.3)	0.86 (0.7)	0.00001
IGF-1/MSTN (ng/mL)	4.6 (1.7)	3.9 (1.3)	5.3 (1.8)	0.00001
IGF-1/COR (ng/mL)	9.64 (4.0)	10.3 (3.9)	8.9 (4.1)	0.127
IGF-1/INS (ng/mL)	6.1 (0.7)	4.4 (3.2)	7.8 (5.1)	0.021
<p>Se presentan los valores de la Media y Desviación estándar. Análisis mediante el Modelo lineal general multivariado. MSTN: Miostatina; FST: Folistatina; TEST: Testosterona; IGF-1: Factor de crecimiento de insulina-1; COR: Cortisol; HOMA-IR: Homeostatic model assessment of Insulin Resistance; HOMA-S: Homeostatic model assessment of Insulin Sensitivity; TEST/COR: Relación Testosterone-Cortisol; IGF-1/INS: Relación del Factor de crecimiento de insulina y la Insulina; FST/MSTN: Relación Folistatina /Miostatina TEST/MSTN: Relación Testosterona/Miostatina, IGF-1/MSTN: Relación del Factor de crecimiento de insulina y Miostatina. ENS: Grupo con entrenamiento no sistemático y ES Grupo con entrenamiento sistemático. Valores ajustados de p <0.05 mostraron diferencias significativas entre el grupo ES y ENS.</p>				

Figura 5. Regresión lineal entre el IMLG y el Índice IGF-1/MSTN en los grupos ENS y ES. El IMLG se asocia negativamente con el Índice IGF-1/MSTN en el grupo ENS, indicando un posible rol importante de MSTN sobre IGF-1 y el IMLG. IMLG: Índice de Masa Libre de Grasa; IGF-1/MSTN: Índice Factor de Crecimiento Similar a Insulina/Miostatina. ENS: Entrenamiento no-sistemático; ES: Entrenamiento Sistemático; Valores de p ajustados: <0.05 .

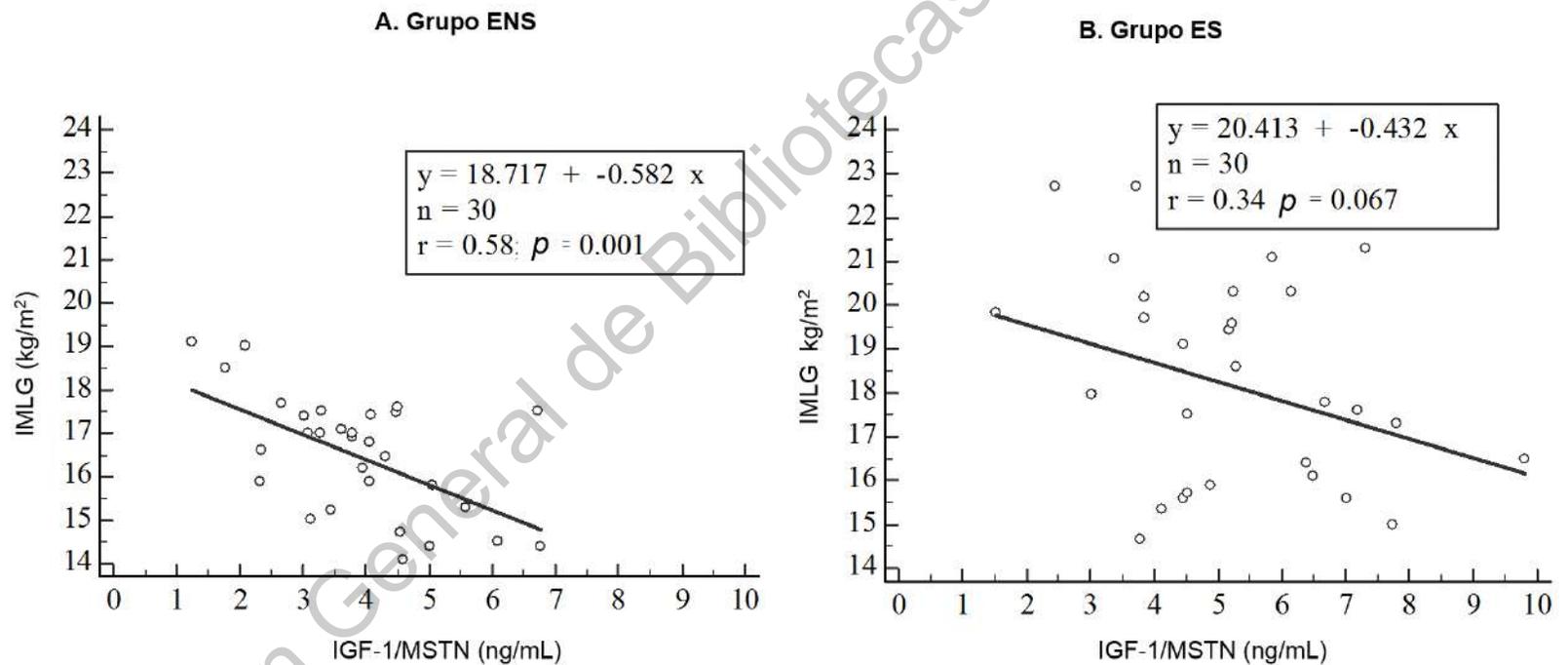


Figura 5. Regresión lineal entre el IMLG y el Índice IGF-1/MSTN en los grupos ENS y ES. El IMLG se asocia negativamente con el Índice IGF-1/MSTN en el grupo ENS, indicando un posible rol importante de MSTN sobre IGF-1 y el IMLG. IMLG: Índice de Masa Libre de Grasa; IGF-1/MSTN: Índice Factor de Crecimiento Similar a Insulina/Miostatina. ENS: Entrenamiento no-sistemático; ES: Entrenamiento Sistemático; Valores de p ajustados: <0.05 .

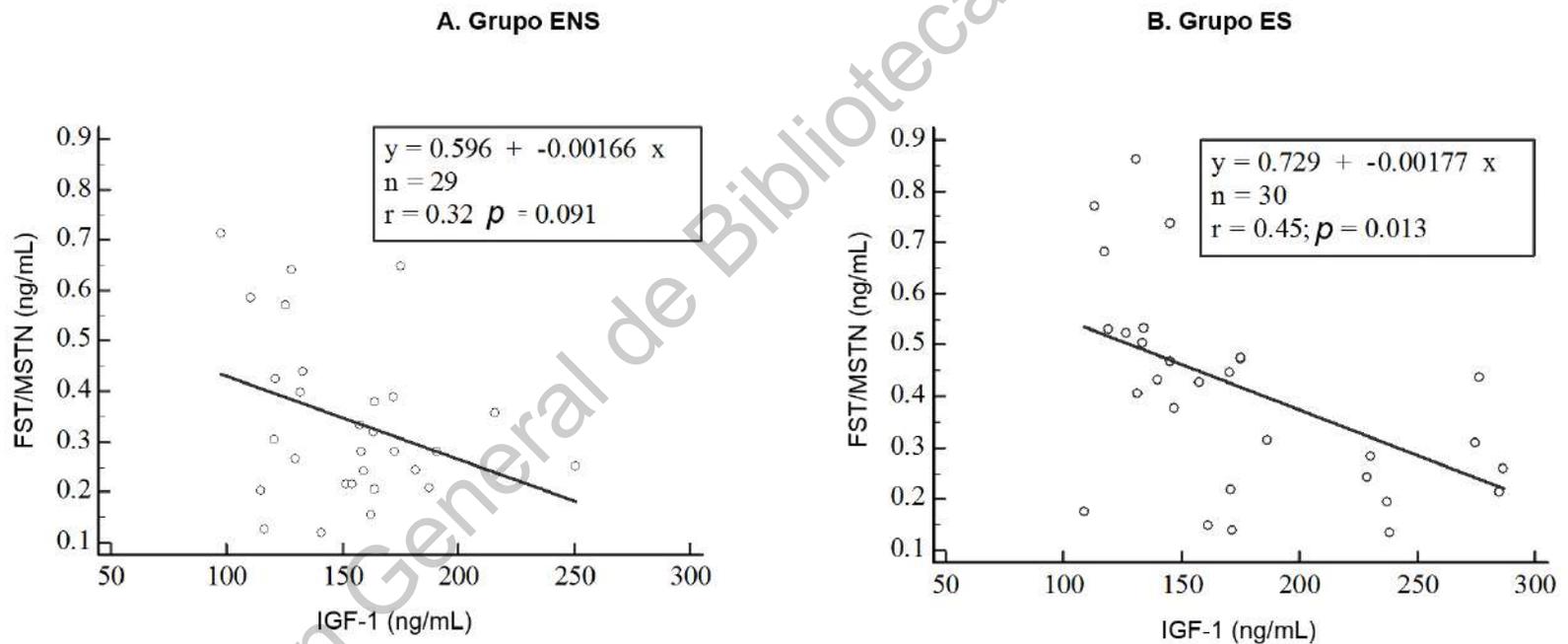


Figura 6. Regresión lineal entre el índice FST/MSTN con el índice IGF-1 en ambos grupos.

Correlaciones dentro de los parámetros musculares y endócrinos

La MSTN fue el único parámetro asociado positivamente con el IMLG en ambos grupos. Mientras que el HOMA-S tuvo una asociación positiva con FST, TEST y el IMLG en el grupo ENS, en contraste el IGF-1 y COR fueron positivamente asociados con el IMLG y TEST en el grupo ES. Por otro lado, la irisina (IRI) tuvo una asociación negativa con IGF-1, TEST y MSTN eIMLG en el grupo ENS. Por último, se observaron correlaciones negativas en el grupo ES entre IGF-1 y FST y la IRI con TEST y MSTN (Figura 7).

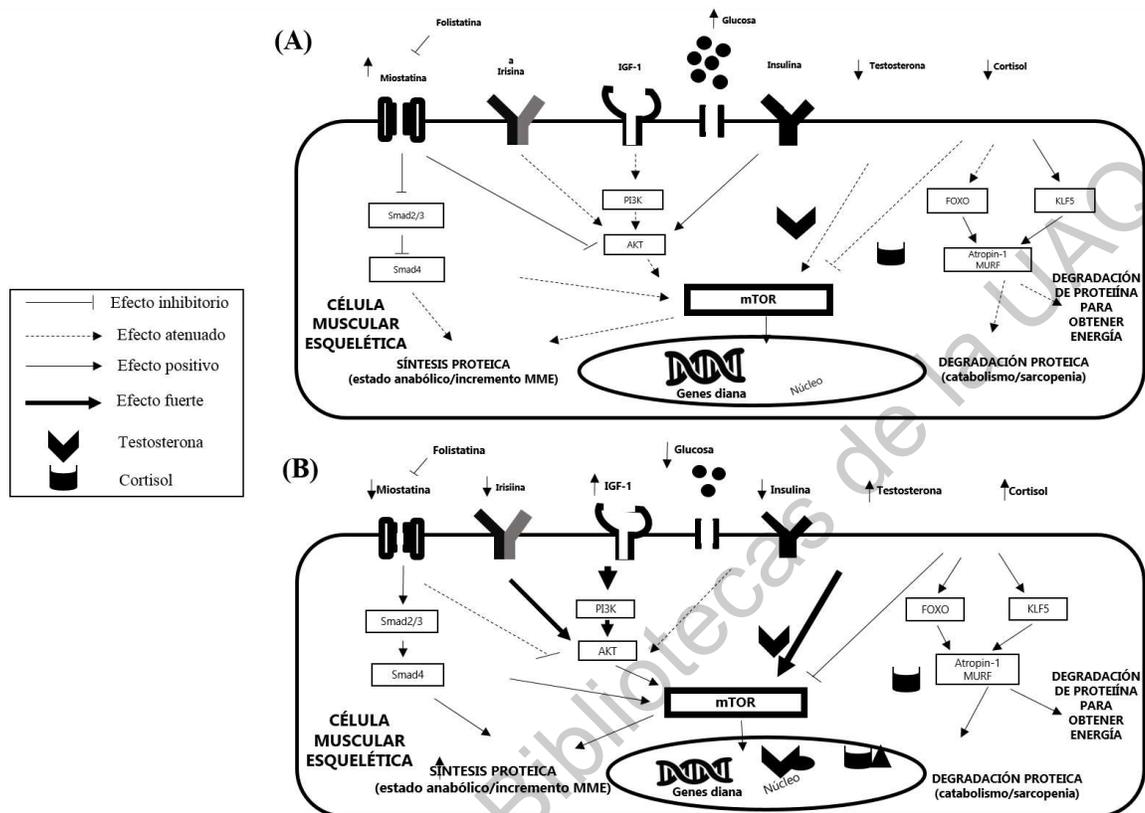
Cuadro 8. Coeficientes de correlación de marcadores endócrinos musculares por grupo

ENS	FFMI (kg/m ²)	FST (ng/mL)	TEST (ng/mL)	MSTN (ng/mL)	IGF- 1(ng/mL)	COR(µg/dL)	IRI (ng/mL)	HOMA-S
IMLG (kg/m ²)	1	-0.123	0.107	0.509*	-0.031	0.057	-0.280	0.415*
IMME (kg/m ²)		-0.048	-0.038	0.450	0.051	0.147	-0.398*	0.329
FST (ng/mL)		1	-0.141	-0.335	-0.224	0.217	0.103	0.416*
TEST (ng/mL)			1	-0.047	-0.105	-0.127	-0.218	-0.227
MSTN (ng/mL)				1	0.005	-0.037	-0.258	0.113
IGF- 1(ng/mL)					1	-0.037	-0.053	0.350
COR (ng/mL)						1	0.036	0.429*
IRI (ng/mL)							1	0.051
HOMA-S								1
ES	FFMI (kg/m ²)	FST (ng/mL)	TEST (ng/mL)	MSTN (ng/mL)	IGF- 1(ng/mL)	COR(µg/dL)	IRI (ng/mL)	HOMA-S
IMLG (kg/m ²)	1	-0.197	0.064	0.490*	0.462*	0.086	-0.122	0.052
IMME (kg/m ²)		-0.023	0.001	0.021	0.229	-0.067	-0.202	0.024
FST (ng/mL)		1	0.287	-0.314	-0.476*	0.317	0.098	-0.197
TEST (ng/mL)			1	0.271	-0.233	0.498*	-0.379*	0.081
MSTN (ng/mL)				1	0.244	0.065	-0.411*	0.140
IGF- 1(ng/mL)					1	-0.157	-0.070	0.310
COR (ng/mL)						1	-0.023	0.068
IRI (ng/mL)							1	0.262
HOMA-S								1

IMLG: Índice de Masa Libre de Grasa; IMME: Índice de Masa Muscular Esquelética; MSTN: Miostatina; TEST: Testosterona; IGF-1: Factor de Crecimiento Similar a Insulina-1; FST: Folistatina; COR: Cortisol; IRI: Irisina; HOMA-S: Modelo Homeostático de Evaluación de Sensibilidad a la Insulina. ENS: Entrenamiento no-sistemático; ES: Entrenamiento Sistemático; Valores de *p* ajustados: <0.05.

Figura 7. Mecanismos bioquímicos propuestos para la interacción de los marcadores endócrinos del estado muscular en condiciones de ayuno en los grupos ENS (A) y ES (B). **(A)** Los niveles de MSTN son mayores mientras que los de IGF-1 son menores en este grupo. Es posible que el estímulo anabólico sobre Akt sea inducido por INS sea atenuado por la acción de la MSTN. Más aun, el efecto del COR sobre la degradación proteica parece ser bajo. **(B)** El incremento en la síntesis proteína a través del mecanismo mTOR parece ser predominantemente inducido por IGF-1 e IRI, con la consecuente inhibición de la MSTN. Aunque los niveles de COR pudieran inducir la degradación de proteínas musculares, el estado anabólico puede permanecer hasta que TEST o el índice IGF-1/COR se incrementen.

Donde: MME: Masa Muscular Esquelética; SMADs (2,3,4): familia de factores de transcripción; PI3K: fosfatidilinositol cinasa-3; Akt: cinasa de proteína B; mTOR; diana de rapamicina de células de mamífero; FOXO: factores de transcripción; Atrogin-1: co-represor transcripcional asociada a proteólisis; MURF: proteína muscular tipo anillo; KLF5: factor de transcripción para gen KLF5.



VII. DISCUSION FASE 2

En este estudio, los niveles séricos de marcadores endocrinos involucrados en el control de la masa muscular esquelética fueron diferentes entre los grupos ES y ENS. Diferentes estudios han demostrado que la MSTN es un regulador negativo de la masa muscular y el metabolismo energético. De hecho, la MSTN es una vía causal en resistencia a la insulina inducida por la inactividad (Hittel *et al.*, 2017), y los niveles de MSTN tienden a ser más altos en individuos obesos y resistentes a la insulina (Zhu *et al.*, 2014). Además, después de un programa de ejercicios, los

niveles de MSTN se asociaron con la aptitud física y el menor riesgo de fragilidad en hombres de edad avanzada (Arrieta *et al.*, 2019). No hubo diferencias en los niveles de MSTN entre los jóvenes sanos y los jugadores universitarios de baloncesto y levantadores de pesas (Han *et al.*, 2017). En nuestro estudio, después de ajustarse por sexo y edad, los niveles de esta miocina fueron más bajos en el grupo ES. Teniendo en cuenta MSTN es el principal regulador negativo de la inhibición de la masa muscular esquelética de la miogenina y la vía mTOR, un regulador crucial de la síntesis de proteínas (Furihata *et al.*, 2016), este resultado se esperaba.

IGF-1 activa las vías de señalización del control de masa esquelético y se conoce como un mediador de acciones anabólicas de la hormona de crecimiento en el músculo esquelético (Velloso, 2008). Los niveles de IGF-1 fueron significativamente más altos en atletas jóvenes de élite y no élite que en sujetos sanos (Sartorio *et al.*, 2004; Han *et al.*, 2017). Hay evidencia de que los hombres másters atletas tienen niveles basales más altos de IGF-1 que sus contrapartes sedentarias (Herbert *et al.*, 2016). Se ha demostrado que una resistencia mixta y un programa de alta intensidad aumenta la actividad del eje GH/IGF-1 en sujetos entrenados (Hill, 2008). Los sujetos en el grupo ST de este estudio mostraron niveles más altos de IGF-1 que los sujetos NST, probablemente inducidos por los estímulos anabólicos crónicos del entrenamiento de ejercicio de tolerancia al ácido láctico.

Los niveles de COR fueron más altos en el grupo ES. Se sabe que el ejercicio de entrenamiento de intensidad moderada a alta provocará un aumento significativo en los niveles séricos de COR (Hills, 2008). COR se conoce como una hormona catabólica y ejerce algunos efectos en el músculo esquelético. COR disminuye la activación de INS/IGF-1 estimulado activación de AKT con la consiguiente supresión de la síntesis de proteínas. Además, el COR puede aumentar la degradación de las proteínas después del ejercicio. Este proceso es crucial para el proceso de

remodelación de MME inducido por el ejercicio (Hckney & Walz 2013; Morgan *et al.*, 2016). Además, durante la crisis energética COR puede inducir el uso de aminoácidos de cadena ramificada como combustible (31). Aunque el COR induce efectos catabólicos sobre el músculo esquelético, esas acciones parecen ser beneficiosas para el proceso de recuperación a corto plazo y ejercicio de larga duración. Sin embargo, altos niveles a largo plazo de COR en relación con marcadores anabólicos como TEST, puede impactar negativamente en la recuperación después del ejercicio y su estado anabólico.

Encontramos correlaciones positivas entre COR con INS y COR con TEST en los grupos NST y ST; Respectivamente. Los impactos del COR en el metabolismo de la glucosa y la insulina, y el COR sérico se han asociado con un aumento en el ayuno de glucosa y una baja sensibilidad a la insulina en la juventud latina con sobrepeso (Adam *et al.*, 2010; Kamba *et al.*, 2016). Como niveles más altos de COR y niveles más bajos de IGF-1 en este grupo NST, puede interferir en un posible desarrollo de resistencia a la insulina.

El ejercicio puede revertir los cambios inducidos por el envejecimiento en las miocinas y sus consecuencias en MME. El ejercicio puede ejercer un papel importante en el mantenimiento de MME y miocinas anabólicos como IGF-1 e IRI parecen desempeñar un papel importante en la promoción de factores miogénicos durante el envejecimiento (Lee *et al.*, 2017). En nuestro estudio hubo dos hallazgos interesantes con respecto a IRI. Los niveles más bajos de IRI se encontraron en el ES en comparación con el grupo ENS, que es consistente con otros estudios fueron sujetos con niveles más altos de aptitud mostraron niveles más bajos de IRI (34). Se ha demostrado que el ejercicio puede afectar tanto a los niveles de MSTN como a IRI, tanto en atletas de élite expuestos a hipoxia a gran altitud (35) como en ancianos después de un programa de ejercicios individualizado por resistencia (36). Curiosamente, en atletas entrenados los niveles de IRI disminuyen y el MSTN aumenta después de sólo 2 semanas de ejercicio extenuante en altitud, pero con

una pérdida significativa de MLG y peso total. Por el contrario, después de un programa de capacitación de 16 semanas, los niveles de IRI aumentaron mientras que MSTN y MLG se mantuvieron sin cambios.

A pesar de que fueron más altos los niveles de COR, otros marcadores anabólicos también fueron más altos en el grupo ES. La relación TEST/COR es un marcador tradicional de supresión de la síntesis de proteínas en atletas (37). Debido a la acción en direcciones opuestas de las mismas vías musculares esqueléticas (38), aquí comparamos otro posible indicador del estado muscular anabólico, la relación IGF-1/MSTN. Se sabe que IGF-1 suprime la vía de señalización MSTN (39) y que la MSTN puede inhibir el proceso de crecimiento inducido por el eje IGF-1 (40). En nuestro estudio, la relación IGF-1/MSTN fue mayor en los nadadores master. En este estudio se encontró que la MLG podría ser regulado de una manera diferente entre los 2 grupos de estudio. Probablemente, la MSTN puede regular la masa magra en ambos grupos, mientras que IGF-1 puede ser un regulador específico en el grupo ES. Por lo que, se necesita más investigación sobre cómo IGF-1, MSTN y IGF-1/MSTN relación podría modular el equilibrio anabólico para mantener la masa corporal magra y el rendimiento del ejercicio en personas altamente activas durante el envejecimiento.

La relación TEST/COR es un marcador tradicional de mayor proteólisis y síntesis de proteínas suprimida en atletas de élite. Los niveles de prueba, la relación TEST/COR encontrada en el grupo ES fue menor que en los atletas jóvenes de élite (41) y las mujeres jóvenes después de un entrenamiento de ejercicio de resistencia (42). Encontramos una asociación negativa entre la relación FST/MSTN y la relación IGF-1/COR solamente en el grupo ES. IGF-1 induce acción anabólica en las células musculares esqueléticas en respuesta a ciertos factores dietéticos y estímulos del ejercicio. Acción anabólica IGF-1 se mantiene a través de la inhibición de MSTN y glucocorticoides como COR, moléculas que inducen la degradación de proteínas en MME (43). La asociación negativa que encontramos en los atletas másters es

posiblemente debido al hecho de que FST es un inhibidor directo de MSTN, pero su efecto anabólico parece depender de IGF-1 y acción de insulina (44).

Teniendo en cuenta las diferencias en los marcadores endocrinos entre grupos, en la Figura 3, proponemos un modelo integrador del equilibrio anabólico/catabólico del estado muscular en condiciones de ayuno. Bajo este punto de vista hay tres diferencias principales en esos marcadores entre los grupos estudiados. En primer lugar, IGF-1, IRI y TEST son los marcadores más fuertes para inducir el estado anabólico en el grupo ST a través de la vía AKT y mTOR. En segundo lugar, INS es el principal marcador anabólico en el grupo NST. En tercer lugar, la relación COR y TEST/COR son los principales parámetros que parecen inducir un estado catabólico en el grupo ST.

IX. CONCLUSION

En conclusión, el estado anabólico en atletas máster con entrenamiento sistemático (ES) parece ser un factor protector para prevenir la pérdida de MLG y MME. Nuestro estudio demostró que el entrenamiento sistemático a largo plazo puede tener una influencia en los niveles de ayuno de algunos marcadores endocrinos musculares de masa muscular, particularmente COR, IRI, MSTN e IGF-1. Estos hallazgos subrayan el papel de los programas de ejercicio que incluyen estímulos de tolerancia a los ácidos cardiovasculares y lácticos con fines competitivos. Más allá del mantenimiento de la masa muscular, los cambios en las miocinas inducidas por el entrenamiento sistemático también ejercen un fuerte impacto en la regulación del metabolismo de carbohidratos y lípidos que puede ser beneficioso en la adaptación a la salud y el entrenamiento del ejercicio. Se requiere más investigación para identificar cómo estos marcadores afectan la salud y el rendimiento de la mediana edad altamente activa y los ancianos.

X. REFERENCIAS

1. Adam, T.C, Hasson, R.E., Ventura, E.E., Toledo-Corral, C., Le, K., Mahurkar, S., Lane, C.L. Weigensberg, M.J., Goran, M.I. Cortisol is negatively associated with insulin sensitivity in overweight Latino youth (2010). *J Clin Endocrinol Metab.* 95(10):4729-4735. DOI: 10.1210/jc.2010-0322.
2. Allen DL, Hittel DS, McPherron A. Expression and Function of Myostatin in Obesity, Diabetes, and Exercise Adaptation. *Med Sci Sports Exerc.* 2011 October ; 43(10): 1828–1835. doi:10.1249/MSS.0b013e3182178bb4.
3. Ali M, Nasiri M, Peeri M. Studying changes of testosterone to cortisol ratio in response to aerobic activity by different movement patterns. *Euro. J. Exp. Bio., 2013, 3(5):76-82.*
4. AMA Endocrine Research Han DS, Chu-Su Y, Chiang CK, et al. Serum myostatin is reduced in individuals with metabolic syndrome. *PLoS One.* 2014;9(9):e108230. Published 2014 Sep 25. doi:10.1371/journal.pone.0108230.
5. Andonian BJ, Bartlett DB, Huebner JL, Willis L, Hoselton A, Kraus V, Kraus WE, Huffman KM. Effect of high-intensity interval training on muscle remodeling in rheumatoid arthritis compared to prediabetes. *Arthritis Research & Therapy* (2018) 20:283. DOI:10.1186/s13075-018-1786-6.
6. Arrieta H, Hervás G, Rezola-Pardo C, Ruiz-Litago F, Iturburu M, Yanguas JJ, Gil SM, Rodríguez-Larrad, A, Irazusta J. Serum Myostatin Levels Are Higher in Fitter, differ between sports? *Clinical Diabetes and Endocrinology* (2018) 4:3. DOI 10.1186/s40842-017-0050-3.
7. Barbé C, Kalista S, Thissen JP. Role of IGF-1 in follistatin-induced skeletal muscle hypertrophy. 2015. *Am J Physiol endocrinol Metab.* 15; 3009(6): E557-E567. DOI: 10.1152/ajpendo.00098.2015.
8. Egerman, MA & Glass DJ. Signaling pathways controlling skeletal muscle mass (2014). *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 49:1, 59-68. DOI:10.3109/10409238.2013.857291.
9. Fife E, Kostka J, Kroc L, Guligowska A, Piglowska M, Soltysik B, Kaufman-Szymczyk A, Fabianowska-Majewska K, Kostka T. Relationship of muscle function to circulating myostatin, follistatin and GDF11 in older women and men. *BMC Geriatrics* (2018) 18:200 <https://doi.org/10.1186/s12877-018-0888-y>.
10. Guo T, Jou W, Chanturiya T, Portas J, Gavrilova O, et al. (2009) Myostatin Inhibition in Muscle, but Not Adipose Tissue, Decreases Fat Mass and Improves Insulin Sensitivity. *PLoS ONE* 4(3): e4937. doi:10.1371/journal.pone.0004937.

11. Hackney & Walz. Hormonal adaptation and the stress of exercise training: the role of glucocorticoids. (2013). *Trends Sport Sci.* 20(4):165-171.
12. Han D-S, Chu-Su Y, Chiang C-K, Tseng F-Y, Tseng P-H, Chen Ch-L, Wu K-D, Wang W-Sh. (2014) Serum Myostatin Is Reduced in Individuals with Metabolic Syndrome. PLoS ONE 9(9): e108230. doi:10.1371/journal.pone.0108230.
13. Hayes LD, Herbert P, Schulthorpe NF, Grace FM. Exercise training improves free testosterone in lifelong sedentary aging men. *Endocrine Connections* (2017) 6, 306–310. DOI: 10.1530/EC-17-0082.
14. He Z, Tian Y, Valenzuela PL, Huang C, Zhao J, Hong P, He Z, Yin S and Lucia A (2018) Myokine Response to High-Intensity Interval vs. Resistance Exercise: An Individual Approach. *Front. Physiol.* 9:1735. DOI: 10.3389/fphys.2018.01735.
15. Hittel, D; Axelson, M; Sarna, N; Shearer, J; Huffman, K; Kraus, W (2010). Myostatin decreases with aerobic exercise and associates with insulin resistance. *Med. and Science in Sports and Exercise.* 42, 9. DOI: 10.1249/MMS.0b013e3181e0b9a8.
16. Joulia E, Cabello. A negative Regulator of muscle development and maintenance. *Advances in gene, molecular and Cell Therapy*, 2007. 120-125.
17. Keller K, Engelhardt M. Strength and muscle mass loss with aging process. Age and strength loss. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal* 2013; 346 3 (4): 346-350.
18. Kraemer WJ, Ratamess NA, Hymer WC, Nindl BC and Fragala MS (2020). Growth hormones, testosterone, insulin-like Growth Factors, and Cortisol: Roles and Integration for Cellular Development and Growth with Exercise. *Front. Endocrinol.* 11:33. DOI: 10.3389/fendo.2020.00033.
19. Lenk K, Schur R, Linke A, Erbs S, Matsumoto Y, Adams V, Schuler G. Impact of exercise training on myostatin expression in the myocardium and skeletal muscle in a chronic heart failure model *European Journal of Heart Failure* (2009) 11, 342–348. DOI:10.1093/eurjhf/hfp020.
20. Leskinen T, Sipilä S, Kaprio, Kainulainen H, Alen M, Kujala UM. Physically active vs. inactive lifestyle, muscle properties, and glucose homeostasis in middle-aged and older twins. *AGE* (2013) 35:1917–1926. DOI 10.1007/s11357-012-9486-7.
21. Mangine GT, Hoffman JR, Gonzalez AM, Townsend JR, Wells AJ, Jajtner AR, Beyer KS, Boone CH, Miramanti AA, Wang R, LaMonica MB, Fukuda DH, Ratamess NA, Stout JR. The effect of training volume and intensity on improvements in muscular strength and size in resistance-trained men. *Physiol Rep*, 3 (8), 2015, e12472, doi:10.14814/phy2.12472.
22. Mazzur A. The age-testosterone relationship in black, white, and McGly C, Van Vliet SV, Stokes T, Mittendorfer B, Phillips SM. The impact of exercise and nutrition on the regulation of skeletal muscle mass. *J Physiol* 0.0 (2018) pp 1–8 DOI: 10.1113/JP275443.

23. McPherron A METABOLIC FUNCTIONS OF MYOSTATIN AND GDF11. *ImmunolEndocrMetab Agents Med Chem.* 2010 December; 10(4): 217–231. DOI:10.2174/187152210793663810.
24. Mazur A. The age-testosterone relationship in Black, White, and Mexican-American men, and reasons for ethnic differences. *The Aging Male*, June/September 2009; 12(2/3): 66–76. DOI: 10.1080/13685530903071802.
25. Michailidis, Y. Stress hormonal analysis in elite soccer players during a season (2014). *J of Sport and Health Science.* 2: 279-283. DOI: 10.1016/j.jshs.2014.03.016.
26. Arrieta H, Hervás G, Rezola-Pardo C, *et al.* Serum Myostatin Levels Are Higher in Fitter, differ between sports? *Clin Diabetes and Endocrinol.* 2018; 4:3. DOI 10.1186/s40842-017-0050-3.
27. Nalbandian M, Takeda M. Lactate as a Signaling Molecule That Regulates Exercise-Induced Adaptations *Biology* 2016, 5, 38; doi:10.3390/biology5040038.
28. Nishida Y, Matsubara T, Tobira T, Shindo Muneheiro, Tokuyama K, Tanaka K, Tanaka H. Effect of Low-Intensity Aerobic Exercise on Insulin-Like phenotype in muscle function and aerobic capacity in young adults. *Cytokine* 107 (2018) 118–124. DOI: [10.1016/j.cyto.2017.12.008](https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.12.008).
29. Pinheiro L, Pedrolongo R, Thommazo-Luprini LD, Gonçalves R, Carneiro M, Paula R, Bonjorno-Junior JC, oliveira CR, Luporini R, Borghi-Silva A. Myostatin and adipokines: The role of the metabolically unhealthy obese Proteins in Healthy Men. *International Journal of Endocrinology.* Volume 2010, Article ID 452820, 8 pages.
30. Ratkevicius A, Joyson A, Semer I, Dhanani T, Griergson C, Tommasi A.M., DeVries A., Rauchhaus P, Crwther D, Aesci S, Yaworsky P, Gilbert F, Redpath TW., Brady J., Fearon KCH, Reid DM, Greig CA, Wackerhage H. Serum Concentrations of Myostatin and Myostatin-Interacting Proteins Do Not Differ Between Young and Sarcopenic Elderly Men., *J Gerontol A BiolSci Med Sci.* 2011 June;66A(6):620–626 doi:10.1093/gerona/glr025.
31. Retamales, A; Zuloaga, R, Valenzuela CA, Gallardo-Escarate, C; Molina, A, Valdés, JA. Insulin-like growth factor-1 suppresses the myostatin signaling pathway during myogenic differentiation (2015). *Bioch and Biophysical Research Communications.* 464:2. 596-602. DOI: 10.016/j.bbrc.2015.07.018.
32. Sartorio A, Marazzi N, Agosti F. elite volunteer athletes of different sport disciplines may have baseline GH levels divorced from unaltered levels of both IGF-1 and GH-dependent bone and collagen markers: a study on the field. (2004). *J Endocrinol Invest;* 27(5): 410-415. DOI:10.1007/BF03345283.

33. Sheikholeslami-Vatani D, Ahmadi S, Salavati R. Comparison of the Effects of Resistance Exercise Orders on Number of Repetitions, Serum IGF-1, Testosterone and Cortisol Levels in Normal-Weight and Obese Men . *Asian J Sports Med.* 2016 March; 7(1): e30503.
34. Śliwicka E, Cisoń T, Kasprzak Z, Nowak A, Pilaczyńska-Szcześniak E (2017) Serum irisin and myostatin levels after 2 weeks of high-altitude climbing. *PLoS ONE* 12(7): e0181259. DOI: [10.1371/journal.pone.0181259](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181259).
35. Song YH, Song JL, Delafontaine P, Godard MP. The therapeutic potential of IGF-I in skeletal muscle repair. *Trends EndocrinolMetab.* 2013; 24(6): 310–319. DOI:10.1016/j.tem.2013.03.004.
36. Sönksen PH, Holt RIG, Böhning W, Guha N, Cowan DA, Bartlett C, Böhning D. Why do endocrine profiles in elite athletes.
37. Tsukamoto S, Shibasaki A, Naka A, Saito H, Lida K. Lactate Promotes Myoblast Differentiation and Myotube Hypertrophy via a Pathway Involving MyoD In Vitro and Enhances Muscle Regeneration In Vivo *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 3649; doi:10.3390/ijms19113649.
38. Uchida MC., Pereira RF., Navarro F., Pontes FL., Tessuti VD., Moreau RL., Pereira LF., Saldanha M. Alteration of testosterone:cortisol ratio induced by resistance training in women. (2004). *Rev Bras Med Esporte.* 10(3):1-4.
39. Velloso, CP. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-1. (2008). *British Journal of Pharmacology.* 154: 557-568.
40. Williams, NG; Interlichia JP.; Melissa F., Hwang JD., Cohen, P., Rodgers BD. Endocrine actions of myostatin: systemic regulation of the IGF and IGF binding protein axis. 2011. *Endocrinology.* 152(19).