

EFFECTOS DEL EJERCICIO SOBRE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA KLOTHO EN POBLACIÓN SANA.

CIENCIAS DE LA ACTIVIDAD FÍSICA Y EL DEPORTE

**FACULTAD CIENCIAS DE LA ACTIVIDAD FÍSICA
Y EL DEPORTE**



Realizado por: Fátima Cambra Ruiz de Azúa, Consuelo Rivero Rodríguez

Grupo matriculado TFG: M41

Año Académico: 2023-2024

Tutor/a: Tamara Iturriaga Ramírez

Área: Estudio experimental

Resumen

Introducción: El gen Klotho codifica una proteína homónima descubierta en 1997 por el Dr. Kuro-o, utilizada como biomarcador en enfermedades cardiovasculares, renales, pulmonares, en cáncer y en enfermedades autoinmunes. La proteína Klotho, es producida principalmente por el riñón y puede encontrarse unida a la membrana de los túbulos renales o en forma soluble en sangre, actuando ésta como hormona con propiedades anti-edad y antioxidantes.

El ejercicio físico aumenta la secreción de S α -Klotho, regulando la producción de óxido nítrico y reduciendo las especies reactivas de oxígeno (ROS). Altos niveles de Klotho mejoran la resistencia al estrés, la regeneración tisular, la angiogénesis y la protección endotelial. Los estudios muestran que los niveles de Klotho son superiores en personas entrenadas que en personas sedentarias, y que hay diferencias en la liberación de S α -Klotho según el tipo y dosis de ejercicio.

Objetivo: determinar cómo el ejercicio regular afecta los niveles de Klotho en hombres y mujeres sanos que no realizan ejercicio físico y que tipo de ejercicio los aumenta más.

Método: Realizaremos un estudio de tipo experimental en el que dividiremos a los participantes en 3 grupos: grupo control, grupo de intervención cardiovascular y un tercer grupo de intervención de fuerza. La intervención se llevará a cabo durante 12 semanas y se medirá antes, después y a las 2 semanas post intervención, para comparar los efectos y determinar si se mantienen o no en el tiempo.

Palabras clave: Biomarcador, ejercicio aeróbico, ejercicio de fuerza, hombres y mujeres sedentarios, ROS.

Abstract

Introduction: The Klotho gene encodes a protein of the same name discovered in 1997 by Dr. Kuro-o, used as a biomarker in cardiovascular, renal, pulmonary diseases, cancer, and autoimmune diseases. The Klotho protein is mainly produced by the kidney and can be found either bound to the membrane of renal tubules or in soluble form in the blood, acting as a hormone with anti-aging and antioxidant properties.

Physical exercise increases the secretion of α -Klotho, regulating nitric oxide production and reducing reactive oxygen species (ROS). High levels of Klotho improve stress resistance, tissue regeneration, angiogenesis, and endothelial protection. Studies show that Klotho levels are higher in trained individuals compared to sedentary individuals, and that there are differences in α -Klotho release based on the type and intensity of exercise.

Objective: To determine how regular exercise affects Klotho levels in healthy men and women who do not engage in physical exercise and which type of exercise increases them the most.

Method: We will conduct an experimental study where participants will be divided into 3 groups: a control group, an aerobic intervention group, and a third strength intervention group. The intervention will take place over 12 weeks, and measurements will be taken before, immediately after, and 2 weeks post-intervention to compare effects and determine if they are sustained over time.

Key words: Biomarker, aerobic exercise, resistance exercise, sedentary men and women, ROS.

Índice:

1. Introducción.....	6
2. Justificación.....	10
3. Objetivos e Hipótesis del estudio.....	11
4. Metodología.....	12
4.1. Diseño.....	12
4.2. Muestra y formación de grupos.....	12
4.3. Variables y material de medida.....	15
4.4. Procedimiento.....	17
4.5. Análisis de datos.....	22
5. Equipo investigador.....	23
6. Viabilidad del estudio.....	24
7. Limitaciones.....	25
Referencias bibliográficas.....	26
Anexos	31

Índice figuras

Figura 1.....	12
Figura 2.....	14
Figura 3.....	17
Figura 4.....	18
Figura 5.....	19
Figura 6.....	20
Figura 7.....	21
Figura 8.....	23

1. Introducción.

Klotho es un gen que codifica una proteína del mismo nombre. Este gen fue descubierto en 1997 por el Doctor Kuro-o. En un estudio en ratones encontraron que la mutación del gen provocaba síntomas de envejecimiento como la sarcopenia, y una baja densidad ósea (Kuro-o et al., 1997). Los estudios más recientes se centran en el mecanismo de la acción molecular de la proteína Klotho y su utilidad como biomarcador para pronosticar diferentes enfermedades (cardiovasculares, renales, pulmonares, cáncer y enfermedades autoinmunes) (Kuro-o, 2018). Esto resulta de vital importancia puesto que la enfermedad cardiovascular, la osteoporosis, el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas representan la mayor causa de mortalidad en los países desarrollados suponiendo un gran coste al sistema sanitario. (Amaro-Gahete et al., 2019). Altas concentraciones de Klotho en sangre, por ejemplo, se relacionan con bajo riesgo cardiometabólico en personas sedentarias. Por tanto, Klotho en sangre es predictor de arteroesclerosis (Morishima et al., 2022). También se relaciona con el envejecimiento prematuro, la inflamación sistémica, el daño endotelial, la regeneración y proliferación celular, el estrés oxidativo y la disfunción del metabolismo de la mineralización ósea (Kuro-o, 2018).

Klotho como proteína se produce principalmente por el riñón y juega un papel importante en el metabolismo energético (Morishima et al., 2022). Es en el riñón donde presenta la correlación más directa conocida y donde encontramos mayor investigación (Prud'homme et al. 2022). Klotho regula la homeostasis de fosfato, el crecimiento de fibroblastos y el metabolismo de la vitamina D. En la enfermedad renal crónica esta proteína se encuentra disminuida (Buchanan et al., 2020).

La proteína Klotho puede encontrarse en formato intra-celular, o unida a la membrana de la célula, en las membranas superficiales de los túbulos renales proximales y distales (Buchanan et al. 2020) o en formato soluble (Amaro-Gahete et al., 2019). Es al soltarse de la membrana, cuando entra en la circulación actuando como una hormona con propiedades anti-edad y anti-oxidativas (Mostafidi et al., 2016). Klotho se encuentra de manera soluble (S-Klotho), principalmente en la sangre, orina y

líquido cefalorraquídeo (Buchanan et al. 2020). Es en su formato soluble cuando se considera un poderoso biomarcador de longevidad. (Amaro-Gahete et al., 2019).

Existen 3 tipos de proteína Klotho en el cuerpo:

- α -Klotho: que se encuentra en múltiples tejidos y tipos de célula, predominantemente en los túbulos distales del riñón, paratiroides y plexo coronario en el cerebro. Está implicado en el control de homeostasis mineral. Actúa como co-receptor de FGF23 en su forma membranosa.
- β -Klotho: está presente principalmente en el hígado, intestino y bazo, páncreas endocrino, tejido adiposo y cerebro. Regula el ácido biliar, los lípidos y la energía metabólica junto con FGF15/19 y FGF21. Regula la actividad de factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF).
- γ -Klotho: está relacionada con la proteína Klotho expresada en el tejido adiposo marrón (Amaro-Gahete et al., 2018). Sobre estas dos últimas se tiene menos conocimiento que sobre α -Klotho.

El ejercicio parece jugar un papel importante en la secreción de α -Klotho (Buchanan et al., 2020; Amaro-Gahete et al., 2018) es por ello que basaremos nuestro estudio en este tipo en concreto de la proteína Klotho, que además puede medirse en sangre usando un Elisa Kit (Yamazaki et al., 2010).

El ejercicio, además, tiene múltiples beneficios por si solo en el retraso del envejecimiento y en la prevención de la sarcopenia, las enfermedades cardiovasculares y la hipertensión, y es un gran predictor de la expectativa de vivir de forma independiente y de la mortalidad. De hecho, existen muchas similitudes entre los procesos y patologías relacionados con la edad que son regulados por Klotho y aquellos regulados por el ejercicio o la actividad física (Avin et al., 2014).

Klotho inducido por el ejercicio, regula la producción de óxido nítrico (NO) e inhibe la producción de las especies reactivas de oxígeno (ROS) dentro de las células endoteliales (Mostafidi et al., 2016) regulando de manera crónica el proceso inflamatorio (Yamamoto, 2005). Altos niveles de α -Klotho mejoran la resistencia al

estrés oxidativo, la regeneración de los tejidos y de la masa muscular, la angiogénesis y la protección de las células endoteliales (Avin et al., 2014).

Se conoce que los niveles de α -Klotho son significativamente mayores en personas sanas y entrenadas, tanto jóvenes como de mayor edad, comparado con personas de las mismas edades desentrenadas. Y que son mayores también en atletas aeróbicos comparado con atletas anaeróbicos (sprinters), siendo los valores de los adultos sedentarios similares a los valores de los sprinters (Saghiv et al., 2015). Por tanto, los resultados de los niveles de concentración de α -Klotho en plasma podrían ser dependientes de los niveles de fitness aeróbico.

Los siguientes estudios muestran las diferencias en la liberación de Klotho en sangre dependiente del tipo y dosis del ejercicio realizado.

En el caso de una intervención aguda:

- En personas sedentarias:
 - o Una sesión aguda de baja a moderada intensidad (40-55% VO₂max) en personas sedentarias jóvenes y mayores, previa a una intervención, no supuso cambios en los niveles de Klotho en sangre (Avin et al., 2014), sin embargo, sí lo haría al finalizar la intervención de 16 semanas de entrenamiento.
 - o Una única sesión realizada por hombres de 40 a 55 años siendo ésta a 60% VO₂max, en un cicloergómetro y a una cadencia de 60 revoluciones por minuto, aumenta los niveles de Klotho (Middelbeek et al., 2021)
 - o Un entrenamiento combinado: cardiovascular y de fuerza, comparado con un entrenamiento sólo de fuerza, en hombres de 20 años, obtiene un volumen significativo mayor de concentración de Klotho nada más acabar y a los 30 y 60 minutos post sesión de ejercicio. (Morishima et al., 2022)

Por tanto, la intensidad y el tipo de ejercicio podrían ser determinantes en el aumento de los niveles de Klotho en personas sedentarias.

- En personas entrenadas:

- Una sesión aguda de intensidad moderada-alta de ejercicio cardiovascular 20' al >70% VO₂max, produce un aumento elevado de los niveles de Sα-Klotho en sangre tanto en hombres como en mujeres (Mostafidi et al., 2016; Santos-Dias et al., 2017)
- Sin embargo, los niveles de Klotho en sangre bajan inmediatamente tras un entrenamiento agudo de pliometría en hombres deportistas, aunque suben posteriormente, pasadas las 24 y 48 horas. (Iturriaga et al., 2021)

Aquí también podemos observar la importancia de la intensidad, y los efectos que puede tener el tipo de ejercicio elegido.

En el caso de una intervención crónica:

- Varias semanas de entrenamiento cardiovascular parecen afectar positivamente a las concentraciones de SαKI en plasma independientemente de la intensidad del entrenamiento (baja, moderada, o alta) (Avin et al., 2014; Matsubara et al., 2014; Saghiv et al., 2019).
- También en mujeres postmenopáusicas, el entrenamiento cardiovascular a largo plazo aumenta las concentraciones de Klotho en plasma (Matsubara et al., 2014)

De lo que podemos deducir que el ejercicio realizado de manera crónica beneficia el aumento de los niveles de Klotho independientemente de la intensidad.

Los niveles de Klotho no aumentan sin embargo tras un protocolo de entrenamiento de dos semanas consistente en sesiones de 6 intervalos de sprints de 30s con 4 min de descanso entre ellos, mientras que sí lo hace en un programa de dos semanas a intensidad moderada, siendo los participantes hombres sanos y sedentarios de 48±5 años de edad. (Middelbeek et al., 2021)

Además, en humanos, los niveles de Klotho en sangre disminuyen a partir de los 40 años de edad. Este descenso se ve particularmente en pacientes con enfermedades relacionadas con el envejecimiento como la enfermedad coronaria, el cáncer, la hipertensión y la enfermedad de hígado (Saghiv et al., 2017). También en la insuficiencia renal, diabetes y enfermedades neurodegenerativas (Prud'homme et al. 2022).

2. Justificación.

Puesto que los niveles de Klotho decrecen con la edad y las enfermedades, de manera similar en hombres y mujeres y, sabiendo que el ejercicio físico produce un aumento de esta proteína (Prud'homme et al. 2022), queremos continuar estudiando la relación entre ejercicio físico y Klotho.

Identificar qué tipo de ejercicio practicado con regularidad genera mayor cantidad de Klotho, podría resultar útil en la prevención de enfermedades, como parte del tratamiento en algunas patologías y como mejora de la calidad de vida de los pacientes.

A día de hoy, la mayoría de los estudios han sido realizados mayoritariamente en hombres, y alguno puntual en mujeres, pero, por el momento, no se han comparado los efectos de una misma intervención en el tiempo en hombres y mujeres a la vez. Además, los estudios realizados en mujeres fueron en edad postmenopáusica y con ejercicio cardiovascular únicamente. Por tanto, queremos valorar también los efectos del entrenamiento de fuerza en mujeres.

Sabemos también que muchos de los beneficios del entrenamiento se reducen sustancialmente tras 2 semanas de inactividad física y desaparecen en los siguientes 2 a 8 meses si no se retoma el entrenamiento (Saghiv et al., 2017). Es por ello, que queremos averiguar cuál es el efecto de dejar de realizar ejercicio, y medir los niveles de Klotho en sangre trascurridas dos semanas de la intervención.

3. Objetivos e Hipótesis del estudio.

Objetivo principal:

- Conocer los efectos del ejercicio en los niveles de Klotho en sangre en hombres y mujeres adultos hasta los 40 años, después de una intervención de ejercicio cardiovascular y ejercicio de fuerza de 12 semanas, y al transcurrir dos semanas sin realizar ejercicio.

Objetivos específicos:

- Comparar los resultados de una intervención de entrenamiento cardiovascular vs una de entrenamiento de fuerza en hombres y mujeres de una misma franja de edad.
- Determinar qué tipo de intervención aumenta más los niveles de Klotho.
- Averiguar si hay diferencias entre géneros.

Hipótesis:

- Los niveles de Klotho en sangre al finalizar la intervención habrán mejorado con respecto a los valores previos a la intervención tras un período de ejercicio físico constante y se reducirán tras dos semanas sin realizar ejercicio.
- Los niveles de Klotho en sangre serán mayores en la intervención cardiovascular que en la de fuerza al finalizar las doce semanas.
- Los niveles de Klotho podrían resultar diferentes en mujeres y hombres, debido a las diferencias biológicas de ambos sexos.

4. Metodología.

4.1. Diseño.

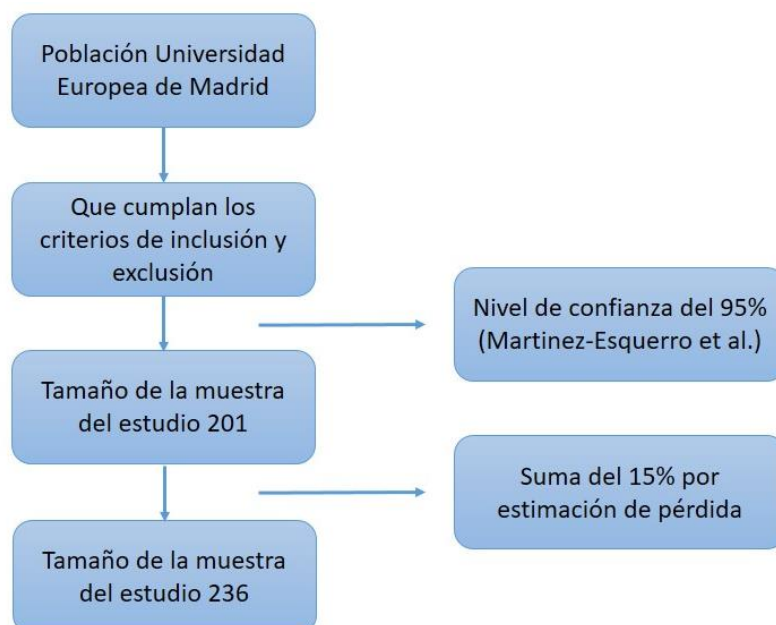
El proyecto es un estudio de tipo experimental aleatorizado en el cual se manipula una variable para valorar los efectos. Se selecciona una muestra de 236 hombres y mujeres sedentarios para la realización del estudio (ver figura 1).

4.2. Muestra y formación de grupos.

Se tomará una muestra por conveniencia de entre los alumnos y profesorado de la Universidad Europea de Madrid, puesto que el equipo investigador forma parte de esta universidad y la investigación se realizará en sus instalaciones. Obtenemos el dato de la población de la Universidad Europea de Madrid a través de la realización de una solicitud interna al 'servicio al estudiante': 18.200 alumnos matriculados en grados y postgrados en el curso 2023/24 en la Universidad, además de alrededor de 1.500 profesores. Realizando los cálculos con la fórmula de la web de Fistera (Martinez-Ezquerro et al., 2017) de determinación del tamaño muestral, obtenemos un resultado de 201 personas, 236 muestra ajustada (ver anexo 1).

Figura 1.

Tamaño muestral.



Nota: Elaboración propia.

Los participantes se reclutan a través del método no-probabilístico. Se piden voluntarios para la realización del estudio a través de carteles repartidos por los distintos edificios de la Universidad Europea, y online en la página web, Facebook, X, Instagram, y correspondencia interna (personal universitario docente, todos los departamentos) para poder llegar al mayor número de gente posible.

Criterios de inclusión:

- Hombres y mujeres.
- Edad entre los 18 y los 39 años.
- Sedentarios. (<2 h de actividad física a la semana)
- IMC normal (18 – 25)
- Consentimiento informado firmado.

Criterios de exclusión:

- Que padezcan alguna enfermedad.
- Que tengan lesiones.
- Que tengan medicación crónica, incluidos anticonceptivos hormonales.
- Mujeres en la menopausia.
- Mujeres y hombres que realicen más de 2 h de ejercicio físico a la semana de manera regular.

En este estudio de tipo experimental aleatorio, tendremos tres grupos de intervención distintos. La intervención tendrá una duración de 12 semanas. Los participantes serán divididos en grupos de manera aleatorizada:

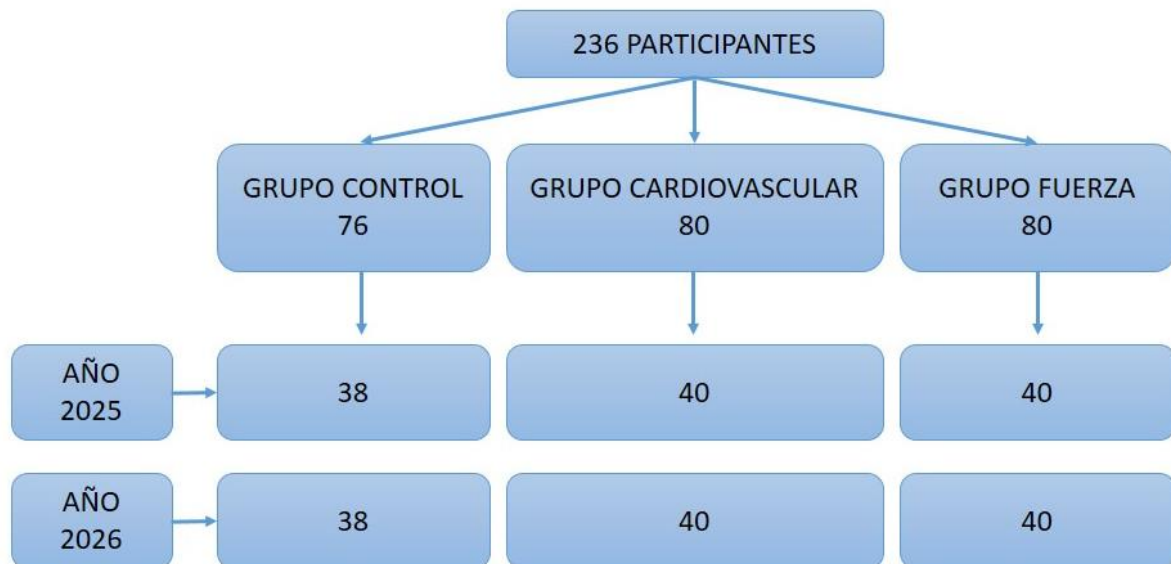
- Grupo 1: intervención entrenamiento cardiovascular.
- Grupo 2: intervención entrenamiento de fuerza.
- Grupo 3: grupo control. Sin intervención de ejercicio

El grupo control firmará comprometerse a no realizar más de 2 horas de ejercicio físico a la semana durante esas 12 semanas. Los grupos de entrenamiento cardiovascular y de fuerza seguirán un programa supervisado por los entrenadores. Durante la intervención se progresará la carga en función de la capacidad del sujeto. Estos dos grupos, además, se comprometen a no realizar ningún tipo de entrenamiento durante las dos semanas siguientes al fin de la intervención.

Puesto que la muestra es de 236 personas decidimos realizar el estudio en dos años, para poder gestionar mejor los recursos a nuestra disposición y no comprometer la calidad del estudio. Por ello, la división en grupos será como se muestra a continuación en la figura 2.

Figura 2.

División de los participantes en grupos.



Nota: Elaboración propia.

El protocolo del estudio se adhiere a los ‘Principios Éticos de la Declaración de Helsinki’ en su última actualización del 2013, y será enviado para su aprobación al ‘Comité Ético de Investigación Clínica de la Comunidad de Madrid’. Se contratará un seguro de responsabilidad civil durante el tiempo de la intervención. Todos los participantes habrán sido informados de los beneficios y posibles riesgos de la intervención y habrán dado su consentimiento por escrito.

4.3. Variables y material de medida.

Con el fin de responder al objetivo principal del estudio y al resto de objetivos, mediremos las siguientes variables antropométricas pre-intervención y post-intervención (transcurridas las 12 semanas) y a las dos semanas de haber acabado la intervención:

1. Peso y altura: sin calzado y con la mínima ropa posible. Mediciones realizadas en varilla de altura (cm, Ano Sayol SL height rod, Barcelona, España) y báscula de pesaje (kg, Asimed T2 scale, Barcelona, España). La altura es una variable independiente cuantitativa continua. El peso es una variable dependiente cuantitativa continua.

Utilizamos la prueba Gold Standard en la medición de la composición corporal, DEXA, Densitometría de Rayos X Dual (Hologic QDR Discovery, Bedford, MA, Estados Unidos) para obtener las siguientes variables:

2. Índice de masa corporal (IMC): Variable dependiente cuantitativa continua.
3. Índice de adiposidad corporal (%BAI): Variable dependiente cuantitativa continua.
4. Índice de porcentaje de masa grasa corporal (FMI): Variable dependiente cuantitativa continua.
5. Índice de tejido adiposo visceral (VAT) área: Variable dependiente cuantitativa continua.
6. Porcentaje de masa muscular (%SMM): Variable dependiente cuantitativa continua.
7. Masa muscular esquelética apendicular (ASM): Variable dependiente cuantitativa continua. Mide la cantidad de tejido muscular. Se obtiene a través de la prueba DEXA con la medición en kg.

Mediremos además:

Niveles de Klotho en sangre: Variable dependiente cuantitativa continua.

Para conocer los niveles de Klotho se recogerá una muestra de sangre de la vena antecubital en un tubo de gel separador que se centrifugará para la extracción del suero y plasma, el cual será posteriormente almacenado a -80°C hasta el momento del análisis, utilizando un kit de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) (Yamazaki et al., 2010). Los valores de Klotho se registran en picogramos/mililitros

(Pg/mL). Los ensayos se realizarán por duplicado en tubos dobles paralelos siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se espera un coeficiente de variación menor al 10%.

Pre y post intervención mediremos también las variables:

Intensidad de entrenamiento (grupo fuerza):

Variable independiente cuantitativa continua. Se medirá el número de repeticiones que son capaces de realizar con una carga inicial en los 4 ejercicios con los que luego entrenarán durante la intervención.

Prueba de esfuerzo para el VO2max (grupo cardiovascular):

Variable dependiente cuantitativa continua. Medida en L/min. Para su medición se utilizará un cicloergómetro Ergoselect 200 (ver anexo 2) con medición de intercambio gaseoso (Oxycon Pro, Care Fusion, Germany). El protocolo a usar será el siguiente: intensidad progresiva, subiendo de intensidad a cada minuto. La carga inicial será de 50 vatios (w) y se subirá de 50 en 50 vatios en hombres, mientras que en mujeres subirá de 25 en 25 (w). Estos datos se basan en el Test ACSM en cicloergómetro (ver anexo 3). La cadencia de pedaleo debe mantenerse entre 60-80 rpm. Se realizará un calentamiento previo de 4 min (25-40 w).

Estas pruebas realizadas pre-intervención nos servirán poder identificar la intensidad y la carga del entrenamiento con la que empezar a trabajar.

La variable independiente será el ejercicio, variable controlada por el equipo investigador. Esta variable es cualitativa nominal y habrá 3 categorías que denominaremos de la siguiente manera, intervención cardiovascular, intervención de fuerza y grupo control. Estas intervenciones están definidas en el apartado 'procedimiento'.

4.4. Procedimiento.

Puesto que la investigación se llevará a cabo en dos años consecutivos, el procedimiento que a continuación desarrollamos será el mismo en las dos ocasiones. Por tanto, en los cálculos de horarios y grupos que aquí aparecen, se cuenta únicamente con la mitad de la muestra, 118 participantes.

Una vez anunciado nuestro estudio y obtenida la respuesta de los posibles participantes, se les enviará un cuestionario de salud y hábitos para que cumplimenten (ver anexo 4). Si cumplen los requisitos, se les citará en la Universidad Europea, en el edificio D del Campus de Villaviciosa de Odón para una primera reunión tras la cual se procederá a realizarles las primeras mediciones (composición corporal y niveles de Klotho en sangre). Esta primera reunión tendrá lugar en varios horarios, en tres días consecutivos (ver figura 3), para poder atender a poca gente de cada vez y con la intención de que puedan acudir en función de su disponibilidad. Al acabar la reunión se llevarán a cabo las mediciones de composición corporal por una de las investigadoras y de los niveles de Klotho en sangre con los enfermeros. Se solicitará que avisen en caso de no poder asistir.

Figura 3.

Horario de la reunión inicial por grupos de 10-12 personas.

Día 1	Día 2	Día 3
9:00 am	8:00 am	9:00 am
12:00pm	11:00 am	12:00 pm
15:00 pm	14:00 pm	15:00 pm
18:00 pm	17:00 pm	18:00 pm

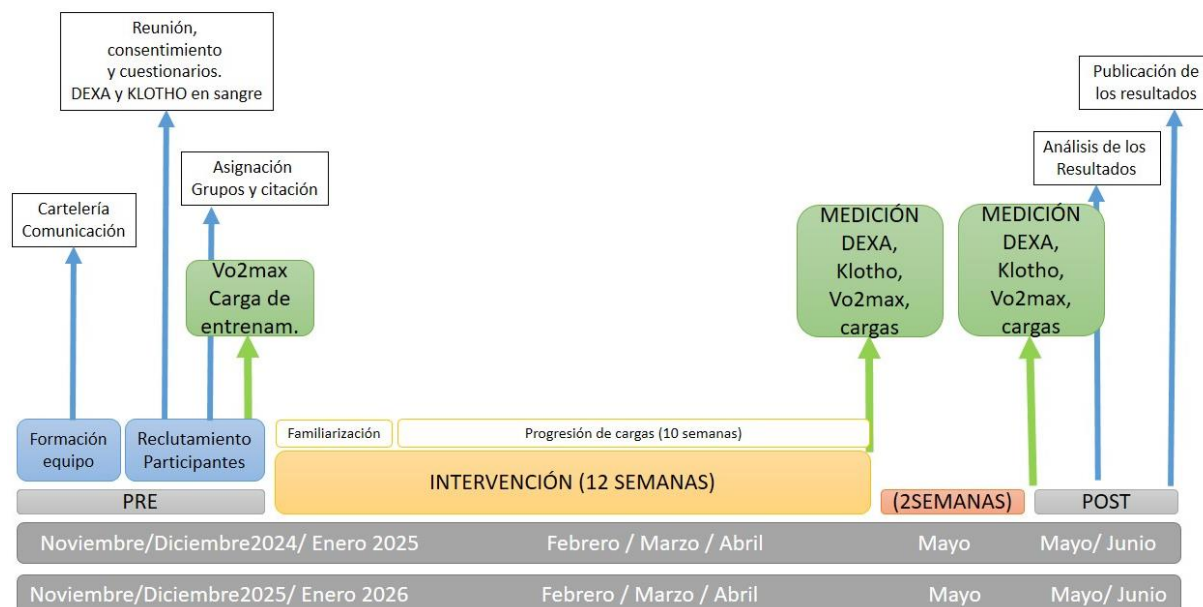
Nota: Elaboración propia.

Los participantes acudirán en el horario seleccionado y en la entrada del edificio D habrá una persona recibiendo e indicándoles a dónde dirigirse. En cada reunión habrá al menos una investigadora que les explicará el proyecto, los beneficios e inconvenientes de participar en él, les dará el consentimiento informado para que lo firmen (ver anexo 5), y se atenderá cualquier tipo de duda que tengan. Las investigadoras dispondrán de una presentación en PowerPoint para la explicación del desarrollo de la investigación. Una vez entregado el consentimiento informado y que se hayan comprometido a su participación, se les indicará dónde ir para la realización

de las mediciones: DEXA, y niveles de Klotho en sangre. Estas mediciones se repetirán al final de las 12 semanas y a las 2 semanas tras la finalización de la intervención para su comparación (ver figura 4 y anexo 6). Posteriormente a estas primeras mediciones, se realizará la división en grupos de entrenamiento por el técnico estadístico que formará parte del equipo investigador.

Figura 4.

Cronograma.



Nota: Elaboración propia.

A partir de esa división (40 participantes por grupo), se les llamará para agendar su primera prueba física a la que acudirán ya preparados con ropa deportiva. Para el grupo cardiovascular será la prueba de esfuerzo, en la que se les medirá el VO2máx, y la prueba de intensidad de entrenamiento para el grupo de fuerza. Para la realización de estas pruebas se les explicará la escala de esfuerzo percibido (Borg, 1982) con la que además trabajarán durante los entrenamientos. Estas dos pruebas se realizarán a la par en días consecutivos y estarán programadas en franjas de media hora aunque se les solicitará que acudan media hora antes para la explicación de la escala de Borg y preparación necesaria (ver anexo 7). Tras haber realizado estas pruebas, en la primera semana de Febrero, comenzará la intervención de 12 semanas. Las dos primeras semanas se considerarán de familiarización con el entrenamiento, la técnica y la escala de esfuerzo.

A continuación desarrollamos el procedimiento de familiarización que se usará para la familiarización con la Escala de 'Percepción del Esfuerzo' (Borg, 1982):

1. **Presentación de la escala:** Se muestra al individuo una tabla con la escala de números del 1 al 10 (ver anexo 8), donde cada número representa un nivel de esfuerzo percibido. El 1 representa un esfuerzo mínimo (como estar sentado y descansando) y el 10 representa el esfuerzo máximo imaginable.
2. **Ejemplos de referencia:** Se proporcionan ejemplos claros de actividades que corresponden con diferentes niveles en la escala, estar sentado en reposo, dando un paseo, una caminata a buen paso, corriendo, etc.
3. **Práctica de la escala:** Se le pedirá al individuo que seleccione en varias pruebas diferentes, el número que mejor represente su percepción actual del esfuerzo físico (estando sentado charlando, caminando en cinta, después de 20 sentadillas...)
4. **Repeticición:** Se continuará reforzando su uso durante el periodo de familiarización de la intervención para conseguir que los participantes comprendan bien el método y se sientan seguros a la hora de usar esta escala.

A partir de la tercera semana se les irá incrementando la carga. En la figura 5, mostramos cómo se distribuirán esos entrenamientos a lo largo de la semana. Los entrenamientos serán realizados en días alternos de manera que los participantes tengan un día de recuperación entre sesión y sesión. Se les pedirá a los participantes que mantengan sus hábitos alimenticios durante la duración de la intervención.

Figura 5.

Organización semanal de los entrenamientos y entrenadores.

DÍA DE LA SEMANA	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO
GRUPO ENTRENAMIENTO CARDIOVASCULAR	8 grupos de 5 personas		8 grupos de 5 personas		8 grupos de 5 personas	
GRUPO ENTRENAMIENTO FUERZA		8 grupos de 5 personas		8 grupos de 5 personas		8 grupos de 5 personas
Número de entrenadores por grupo	1 entrenador + 1 prácticas CAFYD	1 entrenador + 2 prácticas CAFYD	1 entrenador + 1 prácticas CAFYD	1 entrenador + 2 prácticas CAFYD	1 entrenador + 1 prácticas CAFYD	1 entrenador + 2 prácticas CAFYD

Nota: Elaboración propia.

Intervención: A continuación, detallamos la planificación de los entrenamientos que se llevará a cabo durante la intervención: entrenamiento cardiovascular (ver figura 6) y entrenamiento de fuerza (ver figura 7). Los dos grupos realizarán un calentamiento antes de comenzar la sesión (ver anexo 9 y 10).

El grupo de entrenamiento cardiovascular realizará 3 días de entrenamiento en cicloergómetro. Habrá una progresión lineal durante la duración de la intervención. Esta progresión se adaptará al punto de partida de cada participante. Para la configuración de la programación del entrenamiento cardiovascular nos hemos basado en la relación de la FC máx con el VO₂max, además de FC máx con la Escala de Borg (ver en anexo 11).

Figura 6.

Entrenamiento 1: Cardiovascular

ENTRENAMIENTO	Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Frecuencia	3	3	3	3	3		3	3	3	3	3	3
	Recuperación	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	2'	2'	2'	2'	2'
	Series	3	3	3	3	4	4	4	4	4	4	4	4
	Vatios	75-100	75-100	75-100	75-100	90-120	90-120	90-120	100-140	100-140	100-140	120-150	120-150
	tiempo	10	10	10	10	8	8	8	6	6	6	6	6
	Cadencia	60-80 rpm	60-80 rpm	60-80 rpm	60-80 rpm	60-80 rpm	60-80 rpm	60-80 rpm	80-100 rpm	80-100 rpm	80-100 rpm	80-100 rpm	80-100 rpm
	%Fcmáx	60%Fcmáx	60%Fcmáx	60%Fcmáx	60%Fcmáx	70%Fcmáx	70%Fcmáx	70%Fcmáx	70%Fcmáx	80%Fcmáx	80%Fcmáx	80%Fcmáx	80%Fcmáx
	RPE	5-6.	5-6.	5-6.	5-6.	6-7.	6-7.	6-7.	6-7.	8-10.	8-10.	8-10.	8-10.
	Intensidad	48%VO ₂ max	48%VO ₂ max	48%VO ₂ max	48%VO ₂ max	60%VO ₂ max	60%VO ₂ max	60%VO ₂ max	60%VO ₂ max	73%VO ₂ max	73%VO ₂ max	73%VO ₂ max	73%VO ₂ max

Nota: Elaboración propia.

El programa de entrenamiento cardiovascular se inicia a un 60% de la FCmáx tomando como punto de referencia el estudio de Amaro-Gahete, 2019 donde el grupo que siguió las recomendaciones de la OMS entrenó siempre a ese 60% de la FCmáx. El entrenamiento se realiza en series con un tiempo de recuperación de 3 minutos entre ellas, que se reducirá a 2 minutos a partir de la semana 8. Durante las primeras 4 semanas, el volumen total es de 30 minutos, distribuidos en 3 series de 10 minutos cada una. En la semana 5, aumentamos la intensidad levemente y el volumen a 32 minutos, dividiendo las series en 4, siendo cada una de 8 minutos. En la octava semana, se realizan 4 series de 6 minutos a una mayor intensidad.

Los parámetros de vatios son acorde a los del Test ACSM en cicloergómetro con el rango correspondiente a hombres y mujeres. Los valores de FCmax y VO₂ máx se correlacionan en base a la tabla ya mencionada del anexo 11.

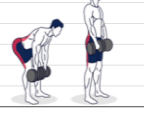
Entrenamiento de fuerza

Puesto que los participantes son población sedentaria y tendrán poca experiencia en el entrenamiento de fuerza, realizaremos el trabajo de fuerza y su progresión basándonos en el carácter de esfuerzo. De esta manera, nos aseguramos que los participantes no sufran de excesiva fatiga a la vez que reciben todos los beneficios del entrenamiento, incluyendo la mejora de su composición corporal, aumento de masa muscular y mejora de su salud y calidad de vida. Se utilizará un modelo de periodización lineal para la progresión de la intensidad de la intervención. (González-Badillo et al., 2017)

Como se ha mencionado, las dos primeras semanas de entrenamiento se centrarán en la enseñanza de una buena técnica de realización del ejercicio y a partir de ahí se comenzará a progresar con la carga. Todas las sesiones (3 a la semana) consistirán en calentamiento (ver anexo 10), y 4 ejercicios de fuerza (sentadillas, press banca, peso muerto y remo). Se han elegido los mismos 4 ejercicios que en el programa FIT-AGING de Amaro-Gahete, 2019, por ser ejercicios básicos y globales, y considerar que sería así un entrenamiento completo en cuanto a partes del cuerpo trabajadas, y estímulos (empuje y tracción). En la figura 7, se muestra cómo será la progresión de las 12 semanas de entrenamiento.

Figura 7.

Entrenamiento de fuerza.

CICLO 1	Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ejercicio	Frecuencia	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Recuperación	2'	2'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'
	Series x (CE)	3 x 6 (20)	3 x 6 (20)	3 x 8 (20)	3 x 8 (20)	3 x 8 (20)	4 x 4 (15)	4 x 4 (15)	4 x 4 (15)	4 x 3 (12)	4 x 3 (12)	4 x 3 (10)	4 x 3 (10)
	Velocidad	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima
	Kg:												
	Recuperación	2'	2'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'
	Series x (CE)	3 x 8 (20)	3 x 8 (20)	3 x 10 (20)	3 x 10 (20)	3 x 10 (20)	4 x 6 (15)	4 x 6 (15)	4 x 8 (15)	4 x 5 (12)	4 x 5 (12)	4 x 4 (10)	4 x 4 (10)
	Velocidad	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima
	Kg:												
	Recuperación	2'	2'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'
	Series x (CE)	3 x 6 (20)	3 x 6 (20)	3 x 8 (20)	3 x 8 (20)	3 x 8 (20)	4 x 4 (15)	4 x 4 (15)	4 x 4 (15)	4 x 3 (12)	4 x 3 (12)	4 x 3 (10)	4 x 3 (10)
	Velocidad	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima
	Kg:												
	Recuperación	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'	3'
	Series x (CE)	3 x 8 (20)	3 x 8 (20)	3 x 10 (20)	3 x 10 (20)	3 x 10 (20)	4 x 6 (15)	4 x 6 (15)	4 x 8 (15)	4 x 5 (12)	4 x 5 (12)	4 x 4 (10)	4 x 4 (10)
	Velocidad	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima	máxima
	Kg:												

Nota: Elaboración propia.

4.5. Análisis de datos.

Una vez recopilados todos los datos, se creará una base de datos para poder analizarlos.

Estadística descriptiva:

Para las variables de peso, índice de masa corporal, de adiposidad corporal, de masa grasa corporal, de tejido adiposo visceral, porcentaje de masa muscular y masa muscular esquelética apendicular y niveles de Klotho en sangre, intensidad de entrenamiento y VO2máx se calculará como medidas de tendencia central la media y la mediana y como medidas de dispersión la desviación estándar y el rango para describir la distribución de los datos.

Estadística inferencial:

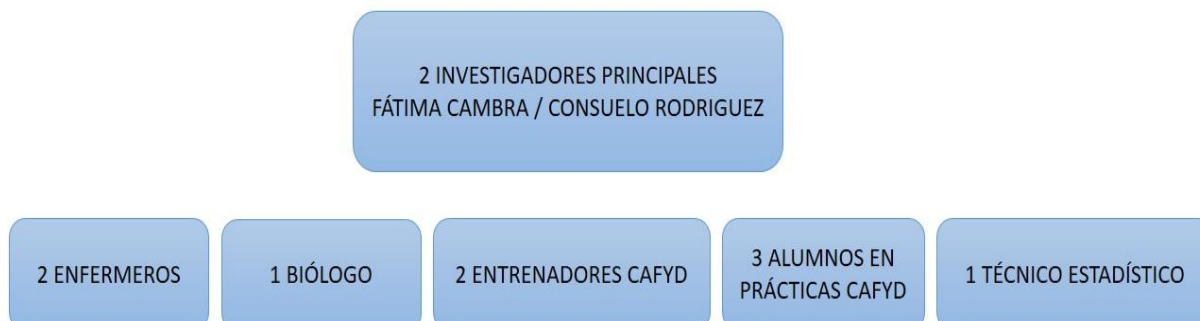
Primero realizaremos la prueba de normalidad de Saphiro Wilk para saber si las variables presentan normalidad. Con el análisis de correlación se evaluará la relación entre las siguientes variables: índice de masa corporal, de adiposidad corporal, de masa grasa corporal, de tejido adiposo visceral, porcentaje de masa muscular y masa muscular esquelética apendicular y niveles de Klotho en sangre, intensidad de entrenamiento y VO2máx mediante los coeficientes correlación de Pearson (r) si son paramétricas o Spearman (r) si no son paramétricas. Además, se realizarán pruebas de contraste de hipótesis. Se analizarán si existen diferencias antes y después de la intervención en las variables, cantidad de masa muscular y niveles de Klotho en sangre mediante los test de medidas relacionadas T-test si son paramétricas y si no son paramétricas el test de Wilcoxon. Compararemos los tres tipos de intervención frente a las 2 mediciones de las variables usando una ANOVA de 2 vías de medidas repetidas.

Todos los datos se medirán con el software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) es IBM® SPSS® Statistics 29.

5. Equipo investigador.

Figura 8.

Organigrama.



Nota: Elaboración propia.

Como aparece en la figura 8, el equipo investigador estará formado por:

- Las dos investigadoras CAFYD que son las encargadas de dirigir el proyecto, liderando el grupo, orientando la investigación, gestionando y derivando el trabajado a cada responsable y coordinando todo el estudio. Son las responsables de realizar las reservas de las instalaciones y la cara visible para los participantes. Además serán las que lleven a cabo las pruebas de composición corporal en la DEXA y supervisarán los entrenamientos. Una vez finalizado el estudio, realizarán un informe detallado con la información obtenida, y analizando y comparando los resultados entre las intervenciones y los géneros.
- 2 licenciados CAFYD, que se encargaran de dirigir los entrenamientos y tendrán a su cargo a los estudiantes de prácticas. Enseñarán y corregirán la técnica de los participantes y tomarán los datos relevantes (RPE, FC, cargas, etc) durante los entrenamientos.
- 3 alumnos en prácticas de CAFYD a los que se les ofrece participar en el estudio con el objetivo de aprender y que les pueda servir en su desarrollo profesional.
- 1 técnico estadístico personal de la Universidad Europea para realizar la aleatorización de la muestra y el análisis de datos.
- 1 biólogo personal de la Universidad Europea para el análisis de los niveles de Klotho.

6. Viabilidad del estudio.

El estudio está diseñado para llevarse a cabo en el campus de Villaviciosa de Odón de la Universidad Europea de Madrid. Se hace uso de sus instalaciones y maquinaria como las aulas de reunión, la DEXA, el laboratorio para la prueba de esfuerzo y la sala de entrenamiento para las intervenciones, a cambio de que la universidad aparezca como colaboradora en el estudio.

Cálculo del presupuesto:

- Las dos investigadoras principales son profesoras de la Universidad Europea, por tanto la investigación forma parte de su labor como profesorado.
- Se contratarán a dos entrenadores (CAFYD) para que dirijan los entrenamientos y colaboren en la investigación durante el proceso de intervención. El sueldo de los entrenadores será de 1.200€/mes. Estarán contratados durante 3 meses cada año, por 2 años, equivaldría a 14.400€.
- La composición corporal realizada en la DEXA de la Universidad será realizada por los investigadores principales que son a su vez técnicos DEXA.
- Se contratará a dos enfermeros para la realización de las extracciones de sangre. El contrato es de 9 días en total (3 días en la medición pre-intervención, 3 en post-intervención y 3 a las dos semanas de finalizar) con un horario de 8 horas cada uno. 70€ el día cada enfermero, equivaldría a 1.260€ total.
- Se comprarán 18 ELISA KIT 96T (ver anexo 12): 690euros x18= 12.420€.
(Cada placa se utiliza para 40 participantes.)
- Para el análisis de las muestras de sangre se contará con un biólogo de la Universidad que formará parte del equipo de investigación.
- El técnico estadístico será también personal de la Universidad por lo que no supondrá ningún coste.
- Seguro de responsabilidad civil. Coste: 143,75€ x 2 años, total: 287.5€
- 1.500€ para el European Congress of Sports Science.
- 2.000€ para la publicación de la investigación.

El presupuesto total es de 31.867,75€.

Se solicita la Beca Santander de la 'Convocatoria de Ayudas a la Investigación' para poder financiar el estudio.

7. Limitaciones.

Uno de los criterios de exclusión es padecer algún tipo de enfermedad o tomar medicación. Por ello, si durante el período de intervención los participantes sufrieran alguna enfermedad o recibieran el diagnóstico de alguna patología, tendrían que abandonar el estudio. Esta limitación es difícil de solventar, pero es por eso que se considera la estimación de pérdida del tamaño de la muestra.

Por otro lado, puesto que la población será seleccionada entre los alumnos y profesores de la Universidad Europea de Madrid, pero el porcentaje de alumnos es mucho mayor, podría ser que la población entre 18 y 25 años fuera mucho más numerosa que la población entre 25 y 39 años, limitando la muestra a una franja de edad muy joven y homogénea. Se hará hincapié en motivar y reclutar personal docente para participar en el estudio y así solventar esta limitación.

Por último, el uso de la escala Borg (RPE) es un sistema de medición de carácter subjetivo que puede estar influenciado por el estado emocional, la experiencia previa con el ejercicio, y otros aspectos subjetivos, lo cual podría llevar a resultados poco precisos. Es por ello que se elige Borg modificado, para facilitar la comprensión de la escala a los participantes y se prestará especial atención en la fase de familiarización para que entiendan e identifiquen bien su nivel de esfuerzo.

Referencias bibliográficas

Amaro-Gahete, F. J., De-La-O, A., Jurado-Fasoli, L., Ruiz, J. R., Castillo, M. J., & Gutiérrez, Á. (2018). Role of Exercise on S-Klotho Protein Regulation: A Systematic Review. *Current Aging Science*, 11(2), 100-107.

<https://doi.org/10.2174/1874609811666180702101338>

Amaro-Gahete, F. J., De-La-O, A., Jurado-Fasoli, L., Espuch-Oliver, A., Robles-González, L., Navarro-Lomas, G., De Haro, T., Femia, P., Castillo, M. J., & Gutiérrez, Á. (2018). Exercise training as S-Klotho protein stimulator in sedentary healthy adults: Rationale, design, and methodology. *Contemporary Clinical Trials Communications*, 11, 10-19.

<https://doi.org/10.1016/j.conctc.2018.05.013>

Amaro-Gahete, F. J., De-La-O, A., Ruiz, J. R., & Castillo, M. J. (2019). Association of basal metabolic rate and fuel oxidation in basal conditions and during exercise, with plasma S-klotho: the FIT-AGEING study. *Aging*, 11(15), 5319-5333.

<https://doi.org/10.18632/aging.102100>

Avin, K. G., Coen, P. M., Huang, W., Stolz, D. B., Sowa, G., Dubé, J. J., Goodpaster, B. H., O'Doherty, R. M., & Ambrosio, F. (2014). Skeletal muscle as a regulator of the longevity protein, Klotho. *Frontiers In Physiology*, 5.

<https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00189>

Borg, G. A. V. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 14(5), 377–381.

<https://doi.org/10.1249/00005768-198205000-00012>

Buchanan, S., Combet, E., Stenvinkel, P., & Shiels, P. G. (2020). Klotho, Aging, and the Failing Kidney. *Frontiers In Endocrinology*, 11.

<https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00560>

González-Badillo, J.J., Sánchez-Medina. L., Pareja Blanco. F., Rodríguez Rosell, D. (2017). La velocidad de ejecución como referencia para la programación, control y evaluación del entrenamiento de la fuerza. *ERGOTECH 2017*

Hawley, J. A., Hargreaves, M., Joyner, M. J., & Zierath, J. R. (2014). *Integrative Biology of Exercise*. *Cell*, 159(4), 738-749. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.029>

Iturriaga, T., Yvert, T., Sanchez-Lorente, I. M., Díez-Vega, I., Fernández-Elías, V. E., Sánchez-Barroso, L., Domínguez-Balmaseda, D., Larrosa, M., Pérez-Ruiz, M., & Santiago, C. (2021). Acute Impacts of Different Types of Exercise on Circulating α -Klotho Protein Levels. *Frontiers In Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.716473>

Kuro-o, M. (2018). The Klotho proteins in health and disease. *Nature Reviews. Nephrology*, 15(1), 27–44. <https://doi.org/10.1038/s41581-018-0078-3>

Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., Ohyama, Y., Kurabayashi, M., Kaname, T., Kume, E., Iwasaki, H., Iida, A., Shiraki-Iida,

T., Nishikawa, S., Nagai, R., & Nabeshima, Y. I. (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*, 390(6655), 45-51.
<https://doi.org/10.1038/36285>

Matsubara, T., Miyaki, A., Akazawa, N., Choi, Y., Ra, S., Tanahashi, K., Kumagai, H., Oikawa, S., & Maeda, S. (2014). Aerobic exercise training increases plasma Klotho levels and reduces arterial stiffness in postmenopausal women. *American Journal Of Physiology-heart And Circulatory Physiology*, 306(3), H348-H355. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00429.2013>

Middelbeek, R., Motiani, P., Brandt, N., Nigro, P., Zheng, J., Virtanen, K. A., Kalliokoski, K. K., Hannukainen, J. C., & Goodyear, L. J. (2021). Exercise intensity regulates cytokine and klotho responses in men. *Nutrition & Diabetes*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41387-020-00144-x>

Morishima, T., & Ochi, E. (2022). Effect of combined aerobic and resistance exercise on serum Klotho secretion in healthy young men -a pilot study-. *Current Research In Physiology*, 5, 246-250.
<https://doi.org/10.1016/j.crphys.2022.06.001>

Mostafidi, E., Akbar, M., Nasri, H., Hagjo, A. G., & Ardalan, M. (2016). Serum Klotho Levels in Trained Athletes. *Nephro-urology Monthly*, 8(1).
<https://doi.org/10.5812/numonthly.30245>

Pollock, M. L., Jackson, A. S., & Foster, C. (1986). The Use of the Perception Scale for Exercise Prescription. En Palgrave Macmillan UK eBooks (pp. 161-176).

https://doi.org/10.1007/978-1-349-08946-8_14

Prud'homme, G. J., Kurt, M., & Wang, Q. (2022). Pathobiology of the Klotho Antiaging Protein and Therapeutic Considerations. *Frontiers In Aging*, 3.

<https://doi.org/10.3389/fragi.2022.931331>

Saghiv, M., Goldhammer, E., Sagiv, M., & Ben-Sira, D. (2015). Effects of Aerobic Exercise Training on S-Klotho in Young and Elderly. *J. J. Physiol.* 1, 1-2.

Saghiv, M., Sagiv, M., Ben-Sira, D. (2015). Comparison between aerobic and anaerobic training influence on s-klotho blood levels following 60 min aerobic bout. *J. J. Physiol.* 1, 1-4.

Saghiv, M. S., Sira, D. B., Goldhammer, E., & Sagiv, M. (2017). The effects of aerobic and anaerobic exercises on circulating soluble-Klotho and IGF-I in young and elderly adults and in CAD patients. *Journal Of Circulating Biomarkers*, 6, 184945441773338. <https://doi.org/10.1177/1849454417733388>

Saghiv, M.S., Ben-Sira, D., Goldhammer, E., Sagiv, M (2019). Are S-Klotho's Maximal concentrations dependent on Exercise Intensity and Time in young adult males? *Journal of Cardiology and Cardiovascular Medicine.* 4, 006-011.

<https://doi.org/10.29328/journal.jccm.1001033>

Santos-Dias, A., MacKenzie, B., Oliveira-Júnior, M. C., Moysés, R. M. A., Consolim-Colombo, F. M., & Vieira, R. P. (2017). Longevity protein klotho is induced by a single bout of exercise. *British Journal Of Sports Medicine*, 51(6), 549-550.

<https://doi.org/10.1136/bjsports-2016-096139>

World Medical Association Declaration of Helsinki. (2013). *JAMA*, 310(20), 2191.

<https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>

Yamamoto, M., Clark, J. D., Pastor, J., Gurnani, P., Nandi, A., Kurosu, H., Miyoshi, M., Ogawa, Y., Castrillón, D. H., Rosenblatt, K. P., & Kuro-o, M. (2005). Regulation of Oxidative Stress by the Anti-aging Hormone Klotho. *The Journal Of Biological Chemistry*, 280(45), 38029-38034. <https://doi.org/10.1074/jbc.m509039200>

Yamazaki, Y., Imura, A., Urakawa, I., Shimada, T., Murakami, J., Aono, Y., Higuchi, H., Yamashita, T., Nakatani, K., Saito, Y., Okamoto, N., Kurumatani, N., Namba, N., Kitaoka, T., Ozono, K., Sakai, T., Hataya, H., Ichikawa, S., Imel, E. A., . . . Nabeshima, Y. I. (2010). Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 398(3), 513-518. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.06.110>

Anexos

Anexo 1.

Cálculo del tamaño muestral a través de la web de Fisterra (Martinez-Ezquerro et al., 2017).

ESTIMAR UNA PROPORCIÓN

Total de la población (N)	19700
(Si la población es infinita, dejar la casilla en blanco)	
Nivel de confianza o seguridad (1-α)	95%
Precisión (d)	3%
Proporción (valor aproximado del parámetro que queremos medir)	5%
(Si no tenemos dicha información $p=0.5$ que maximiza el tamaño muestral)	
TAMAÑO MUESTRAL (n)	201

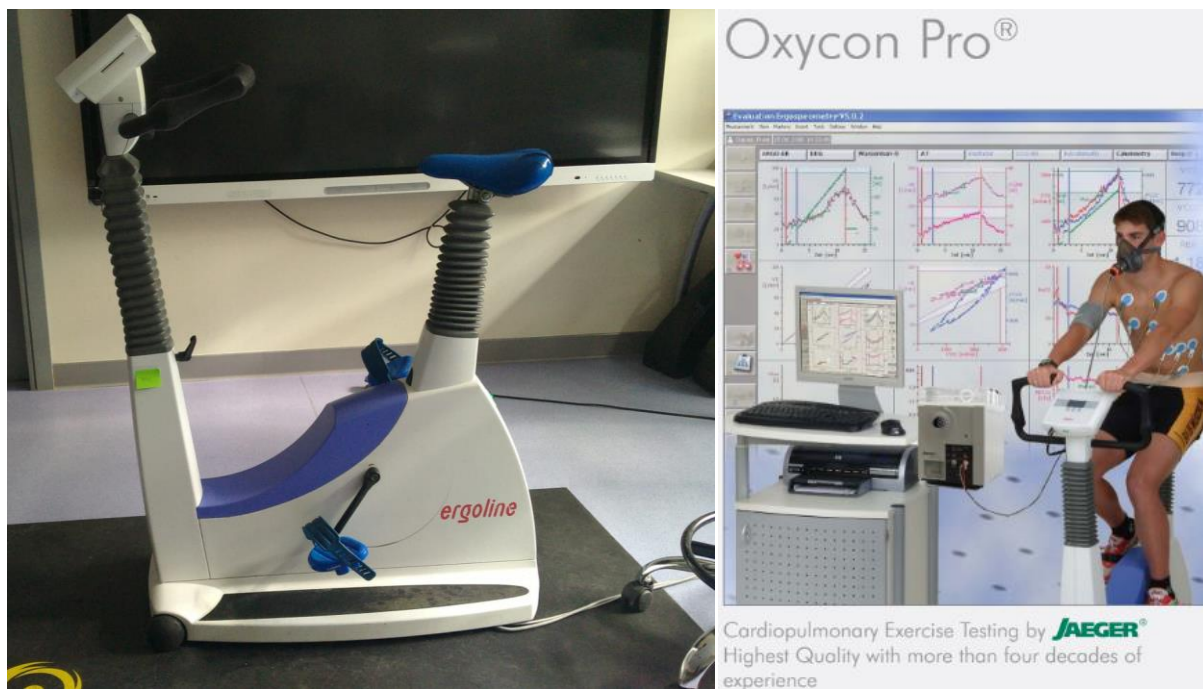
EL TAMAÑO MUESTRAL AJUSTADO A PÉRDIDAS

Proporcion esperada de pérdidas (R)	15%
MUESTRA AJUSTADA A LAS PÉRDIDAS	236

Beatriz López Calviño
Salvador Pita Fernández
Sonia Pértega Díaz
Teresa Seoane Pillado
Unidad de epidemiología clínica y bioestadística
Complejo Hospitalario Universitario A Coruña

Anexo 2.

Ergómetro para pruebas de esfuerzo. Ergoselect 200 y medición de intercambio gaseoso (Oxycon Pro, Care Fusion, Germany).



Nota: (Izquierda) Ergómetro del laboratorio de la Universidad Europea de Madrid.

Anexo 3.**Vatios en cicloergómetro.**

Vatios (Hombres)	Vatios (mujeres)
50	50
100	75
150	100
200	125
250	150
300	175
350	200
400	225
450	275
	300

Nota: Tabla basada en los datos del Test ACSM en cicloergómetro.

Anexo 4.

Cuestionario inicial

<i>Nombre y Apellidos</i>			
<i>Teléfono:</i>			
<i>Email:</i>			
<i>Fecha de Nacimiento:</i>			
<i>Altura:</i>			
<i>Peso:</i>			
<i>¿Padeces alguna enfermedad?:</i>	Cardiovasculares	SI	NO
	Respiratorios	SI	NO
	Hipertensión	SI	NO
	Hipotensión	SI	NO
	Diabetes	SI	NO
	Colesterol	SI	NO
	Sobrepeso	SI	NO
	Problemas digestivos	SI	NO
	Cáncer	SI	NO
	Otras....	¿Cuál? _____	
<i>Tomas algún tipo de medicación:</i>			
<i>¿Sueles hacer deporte?</i>	SI	NO	
<i>¿Qué tipo de deporte?</i>	_____		
<i>¿Desde cuándo?</i>	_____ DÍAS/SEMANA		

¿Con cuánta frecuencia?	
¿Cuántas horas realizas de actividad física?:	Menos de 2 horas a la semana Más de 2 horas a la semana
Disponibilidad de horarios para entrenar	MAÑANA TARDE
Observaciones:	
Fecha	Firma

Anexo 5.

HOJA DE INFORMACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO.

EFFECTOS DEL EJERCICIO SOBRE LOS NIVELES DE LA PROTEÍNA KLOTHO EN POBLACIÓN SANA.

Este documento pretende transmitirle toda la información sobre este estudio de investigación que se realizará en la Universidad Europea de Madrid. Una vez leído y comprendido todo el proceso que se llevará a cabo, podrá decidir si desea participar en él.

Estamos investigando sobre la proteína Klotho, que se conoce como 'antienvjecimiento'. Buscamos conocer qué tipo de ejercicio es más efectivo en la secreción de dicha proteína. La intervención ha sido diseñada por dos alumnas de la facultad de Ciencias de la Actividad física y del Deporte y se llevará a cabo en las instalaciones de la Universidad Europea de Madrid, en el Campus de Villaviciosa de Odón. En ella participarán 236 personas divididas en tres grupos. La duración total de esta intervención será de 12 semanas + 2.

Se formarán 3 grupos de estudio, 1.Grupo control (seguirán con su vida y ritmo habitual, tal y como hasta ahora), 2.Grupo de entrenamiento aeróbico y 3.Grupo de entrenamiento de fuerza. Es importante reseñar que si usted pertenece al grupo control, no podrá realizar más de 2 horas a la semana de actividad física durante el período de tiempo que dura la intervención.

En este estudio la participación es totalmente voluntaria. Si una vez comenzado el estudio quisiera dejar de participar, podrá hacerlo sin problema. Si decide abandonar el estudio, puede decidir permitir el uso de los datos o que se borren todos los registros y mediciones. Lo importante es que usted se sienta cómodo en todo el proceso de su participación.

Al aceptar, usted, se compromete a:

- El cumplimiento de los cuestionarios al comenzar el estudio, los cuales debe responder con sinceridad.
- Realizar la prueba DEXA, la cual se realizará 3 veces en el proceso: antes de empezar la intervención, al finalizar y a las dos semanas de acabar la intervención.
- Realizar un conjunto de mediciones y test.
- Realizar las sesiones en los horarios acordados con los creadores de la intervención.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 3/2018 de 5 de diciembre de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. De acuerdo con lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y

cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al investigador del estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo los investigadores del estudio podrán relacionar dichos datos con usted. Por lo tanto, su identidad no será revelada a persona alguna salvo excepciones, en caso de urgencia médica o requerimiento legal. Sólo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, número de la seguridad social, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país. El acceso a su información personal quedará restringido al investigador del estudio, siempre manteniendo la confidencialidad de estos de acuerdo con la legislación vigente.

A continuación, le adjuntamos el formulario que debe rellenar, si está conforme con participar en el estudio.

D. /Dña., de años de edad y con DNI nº
.....

Manifiesto que he leído y entendido la hoja de información que se me ha entregado, que he hecho las preguntas que me surgieron sobre el proyecto y que he recibido información suficiente sobre el mismo.

Comprendo que mi participación es totalmente voluntaria, que puedo retirarme del estudio cuando quiera sin tener que dar explicaciones y sin que esto repercuta en mi salud.

Presto libremente mi conformidad para participar en el Proyecto de Investigación titulado: "Efectos del ejercicio sobre los niveles de la proteína Klotho en población sana".

He sido también informado/a de que mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a y con las garantías del Reglamento General de Protección de Datos (RGPD), que entró en vigor el 25 de mayo de 2018 que supone la derogación de Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre referidos a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales

Tomando ello en consideración, OTORGO mi CONSENTIMIENTO para cubrir los objetivos especificados en el proyecto.

Madrid, a de de 202...

Anexo 6.

Cronograma.

ACTIVIDADES Y TAREAS	PERSONA RESPONSABLE	Semana 1 (Enero)	Semana 2	Semana 3	Semana 4-18	Semana 19 (Mayo)	Seman a 21	Semana 21-23	Semana 25 – x (Junio)
Llamadas a los voluntarios inscritos y citación	Equipo de reclutamiento	X							
Reunión y firma de consentimiento informado	Equipo de reclutamiento		X						
Cuestionarios de salud y criterios de inclusión/exclusión	Equipo de reclutamiento		X						
Pruebas DEXA	Equipo de reclutamiento		X			X	X		
Extracción de sangre	Enfermero		X			X	X		
Prueba de esfuerzo y cargas de entrenamiento	Entrenadores CAFYD y alumnos			X		X	X		
Asignación por grupos	Equipo de reclutamiento			X					
Intervención - Entrenamiento	Entrenadores CAFYD y alumnos				X				
Análisis de resultados	Técnico estadístico							X	
Publicación de resultados	investigadores								X

Nota. Elaboración propia.

Anexo 7.

Horario tipo para prueba de esfuerzo y de intensidad.

Día 1	Participante	Día 2	Participante	Día 3	Participante
9:00 am		9:00 am		9:00 am	
9:30 am		9:30 am		9:30 am	
10:00 am		10:00 am		10:00 am	
10:30 am		10:30 am		10:30 am	
11:00 am		11:00 am		11:00 am	
11:30 am		11:30 am		11:30 am	
12:00 pm		12:00 pm		12:00 pm	
12:30 pm		12:30 pm		12:30 pm	
16:00 pm		16:00 pm		16:00 pm	
16:30 pm		16:30 pm		16:30 pm	
17:00 pm		17:00 pm		17:00 pm	
17:30 pm		17:30 pm		17:30 pm	
18:00 pm		18:00 pm		18:00 pm	
18:30 pm		18:30 pm		18:30 pm	
19:00 pm		19:00 pm		19:00 pm	
19:30 pm		19:30 pm		19:30 pm	

Nota: Elaboración propia

Anexo 8.

Escala de percepción de Esfuerzo.

#10		"Me muero."
#9		"Estoy al borde del colapso."
#8		"Puedo gruñir en respuesta a tus preguntas y solo puedo mantener este ritmo por poco tiempo."
#7		"Puedo seguir hablando, pero realmente no quiero, y estoy sudando una barbaridad."
#6		"Puedo seguir hablando pero estoy ligeramente sin aliento y definitivamente sudando."
#5		"Estoy justo por encima de lo cómodo, estoy sudando más y puedo hablar fácilmente."
#4		"Estoy sudando un poco, pero me siento bien y puedo mantener una conversación cómodamente."
#3		"Todavía me siento cómodo, pero estoy respirando un poco más fuerte."
#2		"Me siento cómodo y puedo mantener este ritmo todo el día."
#1		"Estoy viendo la televisión y comiendo bombones."

Anexo 9.

Calentamiento tipo para entrenamiento cardiovascular.

Se realiza a modo de circuito, ejecutando una serie de cada ejercicio, seguido de un descanso de 1', para continuar con una segunda vuelta.

SESIÓN DE CALENTAMIENTO (ENTRENAMIENTO CARDIOVASCULAR)				
EJERCICIOS	SERIES	REPETICIONES	DESCANSO	
	2	6 cada lado		
	2	12		
	2	12		
	2	12		
	2	12		
	2	12		
			1' entre series	

Nota. Elaboración propia.

Anexo 10.

Calentamiento tipo para entrenamiento de fuerza.

Se realiza a modo de circuito, ejecutando una serie de cada ejercicio, seguido de un descanso de 1', para continuar con una segunda vuelta.

SESIÓN DE CALENTAMIENTO (ENTRENAMIENTO DE FUERZA)			
EJERCICIOS	SERIES	REPETICIONES	DESCANSO
	2	12	
	2	12	
	2	6 cada lado	
	2	12	
	2	12	
	2	12	
	2	30"	
			1' entre series

Nota. Elaboración propia.

Anexo 11.

Tabla correlación VO2 máx – FC máxima - Escala de Borg.

% VO2 MAX	FC MÁX	ESCALA BORG
86%	>90%	10 MUY DURO
73-86%	80-90%	8-9 DURO
60%	70-79%	7-8 ALGO DURO
48%	60-69%	5-6 LIGERO
35%	50-59%	<5 SUAVE

Nota: Tabla creada a partir de la tabla de correlación VO2 máx – FC máxima de Edwards, 1999 y correlación frecuencia cardiaca con escala de percepción de esfuerzo ((Pollock et al., 1986)

Anexo 12.

Human KL (Klotho) ELISA Kit



Nota: Elisa Kit. Recuperado de Elabscience Bionovation Inc.

https://www.elabscience.com/p-human_kl_klotho_elisa_kit-19958.html