

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Medikuntza Gradua / Grado en Medicina

El papel de mTOR (mammalian target of rapamycin) en el envejecimiento muscular y sus posibilidades terapéuticas.

Revisión bibliográfica

Egilea /Autor:

Sergio Domingos Hompanera

Zuzendaria / Director/a:

María Begoña Sanz Echevarria

Francisco Javier Gil Goicouria

© 2018, Izen-abizenak jarriz babes dezakezu, edo, bestela,
CC lizentzia batekin. / Se puede proteger poniendo nombre
y apellidos/o con una Licencia CC:

<http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

ÍNDICE:

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. SARCOPENIA	1
1.1.1. Consecuencias de la sarcopenia a nivel celular y fisiológico	1
1.1.2. Implicaciones de la sarcopenia en la sociedad.....	2
1.2. DIANA TERAPÉUTICA DEL RECEPTOR DE RAPAMICINA EN MAMÍFEROS (mTOR)	3
1.2.1. Función de mTOR.....	3
1.2.2. Unidades funcionales de mTOR	4
1.3. IMPLICACIÓN DE mTOR EN LA GENERACIÓN DE SARCOPENIA DURANTE EL ENVEJECIMIENTO	5
2. OBJETIVOS	5
3. METODOLOGÍA	5
4. RESULTADOS	9
4.1. ESTUDIOS REALIZADOS EN MODELOS ANIMALES	9
4.2. ESTUDIOS REALIZADOS EN MODELOS CELULARES	14
4.3. ESTUDIOS MIXTOS	20
4.4. ESTUDIOS REALIZADOS EN HUMANOS	20
4.4.1. Intervenciones nutricionales.....	21
4.4.2. Otras intervenciones.....	29
5. DISCUSIÓN	32
5.1. mTOR Y SUS DIANAS EN EL ENVEJECIMIENTO MUSCULAR	32
5.2. MEDIDAS TERAPÉUTICAS CON ACCIÓN SOBRE mTOR PARA EL ENVEJECIMIENTO MUSCULAR	32
5.2.1. Administración de rapamicina	33
5.2.2. Suplementos nutricionales	33
5.2.3. Medidas no nutricionales	36
5.3.LIMITACIONES Y FORTALEZAS	37
6. CONCLUSIONES	37
7. BIBLIOGRAFÍA	38

A los directores María Begoña Sanz y Francisco Javier Gil, por su dedicación y ayuda para poder llevar a cabo este trabajo. A mis padres, mi hermano y a todos los que me han apoyado y acompañado durante estos 6 años

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EFECTOS DEL ENVEJECIMIENTO EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

El músculo esquelético constituye el tejido más abundante del organismo humano, representando entre el 40-50% del peso corporal. Compuesto por múltiples fibras musculares, este tejido realiza principalmente una función locomotora, aunque también participa en la producción de calor y funciones a nivel metabólico. A pesar de su alta capacidad de adaptación, el músculo esquelético es uno de los tejidos que sufre el proceso fisiológico de envejecimiento, pudiendo sufrir los individuos a medida que aumenta su edad atrofia muscular, también conocida como sarcopenia (1).

La sarcopenia consiste en la pérdida continua, progresiva en el tiempo e involuntaria de masa muscular esquelética, que se ve acompañada de otra clínica motora como la pérdida de fuerza generada por los músculos, así como el rendimiento físico aeróbico, considerado un marcador de severidad. Se ha observado que la sarcopenia comienza en torno a los 50 años, perdiendo entre 1-2% de la masa muscular al año y entre un 1-5% de fuerza muscular al año (2).

1.1.1. Consecuencias de la sarcopenia a nivel celular y fisiológico

A nivel histológico, la sarcopenia se caracteriza por una disminución del área transversal de los músculos viéndose afectadas principalmente las fibras musculares tipo II que disminuyen tanto en tamaño como en número por una disminución de proteínas, organelas y citoplasma. Por otro lado, la región corporal más afectada por este fenómeno son las extremidades inferiores, lo que podría estar relacionado por el mayor tamaño y capacidad de generar fuerza de estos músculos (3).

Además de ocasionar una clínica fundamentalmente motora, se ha observado que el músculo tiene cierta actividad endocrina. Esto es debido a que la atrofia muscular puede ocasionar un mayor riesgo de sufrir alteraciones metabólicas, como cambios en la resistencia insulínica. Se ha observado que la sarcopenia y la diabetes mellitus tipo II (DM II) podrían estar estrechamente relacionadas (4). También se ha observado que la atrofia muscular se podría relacionar con una disminución de los niveles de diversas hormonas, supresión de la función inflamatoria, patología cardiovascular, respiratoria e incluso con cierto deterioro cognitivo (3). Por otro lado, la sarcopenia también ha

sido relacionada con un aumento de la fragilidad del individuo, aumento del riesgo de caídas, disminución de la percepción de la calidad de vida e incluso con la anticipación de la muerte, lo que conlleva a una mayor dependencia de terceras personas para la realización de cualquier actividad de la vida diaria (2).

El músculo esquelético es un tejido que está en constante remodelación. Sin embargo, la pérdida de masa muscular durante el envejecimiento se trata de un proceso complejo y multifactorial, siendo el factor más importante una alteración en el balance de la homeostasis proteica. Esto se puede deber tanto a una inadecuada ingesta proteica como a una reducción de la síntesis proteica o a un aumento de la proteólisis (2). Además, se ha observado en aquellos miocitos atroficos una hiperactividad del sistema ubiquitin – proteasoma (5). Otros procesos como un aumento de resistencia a señales anabólicas, una peor función mitocondrial o la senescencia celular también favorecen la aparición de sarcopenia en pacientes geriátricos (6). Por último, se ha observado que la atrofia muscular se ve favorecida por la falta de actividad física, que se ve reducida a medida que la edad de la persona aumenta (7).

Los factores anteriormente citados pueden favorecer la aparición de sarcopenia ya que pueden generar una resistencia anabólica asociada a la edad, lo que provoca una menor síntesis proteica a nivel del músculo esquelético tras la ingesta de aminoácidos esenciales, uno de los factores principales a la hora de estimular la síntesis muscular proteica. Esto implica que los adultos mayores necesitan mayor concentración proteica en las comidas para preservar la masa muscular en comparación con pacientes más jóvenes (8).

1.1.2. Implicaciones de la sarcopenia en la sociedad

La sarcopenia es un proceso prevalente en la sociedad actual, presentándose aproximadamente en el 10% de la población mundial de ambos sexos (9). Si dividimos a la población atendiendo a su edad, podemos observar que el porcentaje de población que presenta atrofia muscular es directamente proporcional a la edad, siendo el porcentaje de individuos con sarcopenia entre el 5 - 13% a los 60 – 70 años y de entre el 11 – 50% al sobrepasar los 80 años de edad (10). Por otro lado, se ha observado que a medida que aumenta la edad el porcentaje del peso corporal que representa el músculo esquelético también disminuye, pasando de aproximadamente el 50% del

peso corporal en adultos jóvenes a un 25% cuando el individuo tiene entre 70 – 80 años (11).

Como ejemplo, se ha observado que el 45% de la población envejecida estadounidense presenta sarcopenia, y el 20% de ellos presentan fragilidad física. En términos económicos, la elevada prevalencia de la sarcopenia conlleva que sea necesario el gasto de 26,2 millones de dólares americanos en su tratamiento y seguimiento. Las expectativas nos llevan a pensar que la prevalencia de la sarcopenia seguirá aumentando en los próximos años debido al progresivo envejecimiento global de la población (12).

Debido a la alta prevalencia y posibles consecuencias patológicas de la sarcopenia, además de las dificultades económicas y logísticas que conlleva el diagnóstico y tratamiento de la sarcopenia se están buscando dianas terapéuticas que permitan un diagnóstico precoz (13). Actualmente, las líneas de investigación están realizando tanto análisis de marcadores biológicos en plasma u orina como biopsias musculares. En el primer caso, se trata de una prueba no invasiva pero que no aporta información acerca de las vías metabólicas. En el segundo caso, la biopsia muscular nos aporta gran información sobre el anabolismo del miocito, aunque cuenta con la gran desventaja de la dificultad que conlleva obtener estas muestras de personas adultas mayores (14).

Además, al tratarse la sarcopenia de un proceso multifactorial, las diferentes vías de investigación han encontrado dificultades para encontrar cuál podría ser la diana terapéutica principal para el tratamiento de la sarcopenia. A pesar de ello, se ha observado que la diana terapéutica de rapamicina en mamíferos (mTOR) tiene gran importancia en la generación de sarcopenia en adultos mayores, y está empezando a ser considerada como la diana terapéutica principal de estudio para el tratamiento de la sarcopenia (15).

1.2.DIANA TERAPÉUTICA DEL RECEPTOR DE RAPAMICINA EN MAMÍFEROS (mTOR)

1.2.1. Función de mTOR

mTOR, descubierta en la década de 1990, es una serina/treonin proteinkinasa encargada de regular la síntesis y degradación proteica celular atendiendo a las

diferentes condiciones ambientales a las que se ve sometida la célula, convirtiéndose de esta manera en un regulado clave de la homeostasis proteica (16). mTOR forma parte de una vía de señalización anabólica relacionada con el crecimiento, metabolismo, supervivencia y migración celular. Además de tener un importante papel en la producción de sarcopenia durante el envejecimiento, se ha relacionado con otras patologías como obesidad, alteraciones metabólicas como la diabetes mellitus tipo II (DM II), cáncer o alteraciones neurológicas como la enfermedad de Alzheimer (3).

1.2.2. Unidades funcionales de mTOR

Se conocen dos complejos de mTOR: mTORC1 y mTORC2. Estos complejos, a pesar de estar conformados por las mismas subunidades, se diferencian entre sí tanto por la estructura proteica que los conforma como por las funciones que realizan dentro de la vía AKT/mTOR (16).

El complejo mTORC1 está compuesto por las subunidades mTOR, Raptor, mLST8, PRAS40 y DEPTOR (17). Este complejo regula la proliferación y crecimiento celular, siendo empleado por las células como medidor de los nutrientes de los que dispone. Debido a esto, se conoce que la actividad de mTORC1 es regulada por algunos factores, siendo el principal regulador de mTORC1 la variación en la concentración de aminoácidos en el medio en el que se encuentra la célula; aunque también se ve regulado por otros factores como los niveles de oxígeno, energía, factores de crecimiento o daño genético a nivel del DNA (18). La activación del complejo mTORC1 provoca un aumento de la síntesis proteica celular debido a la fosforilación de la kinasa ribosomal S6 (S6K) y de 4E-BP1, principales dianas de acción de este complejo, lo que promueve un aumento en la traducción de determinadas secuencias de RNAm. Por otro lado, se ha observado que el complejo mTORC1 tiene otras funciones, como aumentar el consumo de glucosa, disminuir el catabolismo proteico y la autofagia. (16).

Por otro lado, el complejo mTORC2 está compuesto por las subunidades mTOR, mLST8 y DEPTOR, al igual que mTORC1. La principal diferencia entre ambos complejos es que, en el caso de mTORC2, se sustituye la proteína Raptor por Rictor (19). En este caso, sus principales dianas de acción son Akt, kinasa regulada por glucocorticoides (SGK) y proteína kinasa c (PKC). No se conocen concretamente

cuáles son los factores que regulan las funciones del complejo mTORC2. Sin embargo, sí se ha observado que niveles bajos de insulina inhibe este complejo (20). En cuanto a sus funciones, se ha observado que la función principal del complejo mTORC2 es la regulación y control de la migración celular. Otras funciones realizadas por mTORC2 son la proliferación y supervivencia celular (21).

El complejo mTORC1 parece ser el más importante en relación con la atrofia muscular asociada a la edad por su implicación en la activación de la síntesis muscular proteica postprandial y tras la realización de ejercicio físico. Por otro lado, no se conoce a ciencia cierta la función de mTORC2 en el envejecimiento humano, aunque sí se ha demostrado su implicación en otras especies animales (8).

Uno de los principales agentes que controla las funciones de mTOR es la rapamicina, molécula que, al interactuar con este enzima, inhibe las funciones de ambos complejos y que ha sido relacionada con un retraso en la aparición de los eventos fisiológicos relacionados con el envejecimiento (22). Tras realizar diferentes estudios se ha observado que la sensibilidad a rapamicina del complejo mTORC2 es notablemente menor en comparación con mTORC1. Las implicaciones que tiene la diferente sensibilidad a la rapamicina de ambos complejos en la práctica reside en que las funciones de mTORC2 solamente se ven inhibidas frente a tratamientos crónicos con rapamicina, mientras que tratamientos agudos con esta molécula ya pueden inhibir las funciones del complejo mTORC1 (23).

1.3.IMPLICACIÓN DE mTOR EN LA GENERACIÓN DE SARCOPENIA DURANTE EL ENVEJECIMIENTO

mTOR realiza sus funciones en diferentes órganos y tejidos, destacando el hígado, tejido adiposo, y el músculo esquelético. Se ha observado en determinados estudios que la falta de acción de mTORC1 en células madre musculares inhibe la activación, proliferación y diferenciación de estas en miocitos maduros, de tal forma que la regeneración muscular se ve alterada y retrasada. Esto implica que la inhibición del complejo mTORC1 favorezca la aparición de atrofia muscular, así como una reducción del metabolismo oxidativo por parte de los miocitos (24).

En adultos mayores lo que ocurre es una activación de la vía mTOR de menor intensidad en comparación con lo que ocurre con individuos jóvenes. Esto, además, se ve relacionado con una menor reserva de células madre musculares a medida que aumenta la edad de los individuos, lo que en conjunto favorece la incapacidad de reparar el daño muscular que acontece en la sarcopenia con la pérdida de sus funciones que conlleva (25).

A pesar de haber numerosos estudios que pretenden investigar la implicación de mTOR como uno de los principales factores que participan en el envejecimiento y atrofia muscular todavía se observan discrepancias entre ellos, por lo que es necesario seguir investigando para llegar a una conclusión científicamente fundamentada.

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica sobre la relación que existe entre el receptor de rapamicina en mamíferos (mTOR) y la atrofia muscular que sucede en el proceso de envejecimiento. También se pretende conocer las diferentes posibilidades terapéuticas que modulen la actividad de mTOR y que puedan ser útiles para paliar la clínica asociada a la sarcopenia.

3. METODOLOGÍA

Para la realización de este trabajo se llevó a cabo una revisión de la bibliografía en la que se estudia la relación entre mTOR y el envejecimiento muscular, empleando para ello las bases de datos *Scopus* y *Pubmed*.

Para realizar la búsqueda bibliográfica se emplearon los siguientes criterios de inclusión: artículos publicados entre los años 2013 y 2022, que contuvieran en su título o *abstract* los términos *human*, *ageing*, *skeletal*, *muscle* o *mTOR*; y que trataran aspectos médicos, bioquímicos, genéticos o de biología molecular. Para hacer una búsqueda más completa, se mantuvieron los artículos que describían estudios experimentales tanto en seres humanos como en modelos animales y celulares.

Una vez realizada la búsqueda siguiendo los criterios citados anteriormente, se obtuvieron un total de 115 artículos compatibles, 106 artículos en la base de datos *Scopus* y 9 artículos en *Pubmed*. De estos, 7 artículos aparecían en ambas bases de

datos, por lo que la búsqueda bibliográfica inicialmente aportó como resultado un total de 108 artículos compatibles. El proceso de selección aparece esquematizado en la **Figura 1**.

Para seguir acotando la búsqueda bibliográfica, se descartaron los artículos que se trataban de revisiones (49 artículos), aquellos artículos que no estuvieran escritos en inglés o castellano y aquellos cuyo texto completo no estuviera accesible (3 artículos). Una vez aplicados estos criterios a nuestra búsqueda inicial se descartaron 49 artículos, quedando un total de 56 artículos.

Para terminar de acotar la bibliografía en la que se basó este trabajo se analizó el *abstract* de estos 56 artículos y se eliminaron aquellos que no mencionen mTOR o no se referían al proceso de envejecimiento muscular (22 artículos). Por otro lado, se seleccionaron aquellos artículos que investigan diferentes terapias o tratamientos que puedan ser útiles para mitigar los efectos del envejecimiento muscular, descartando aquellos artículos que hablan sobre posibles alteraciones genéticas relacionadas con este proceso fisiológico (11 artículos). Por último, se descartaron aquellos artículos que se basaban en resultados publicados en investigaciones previas (1 artículo). Aplicando estos criterios se descartaron otros 34 artículos, obteniendo finalmente como resultado de nuestra búsqueda un total de 22 artículos de investigación que se emplearon para realizar este trabajo.

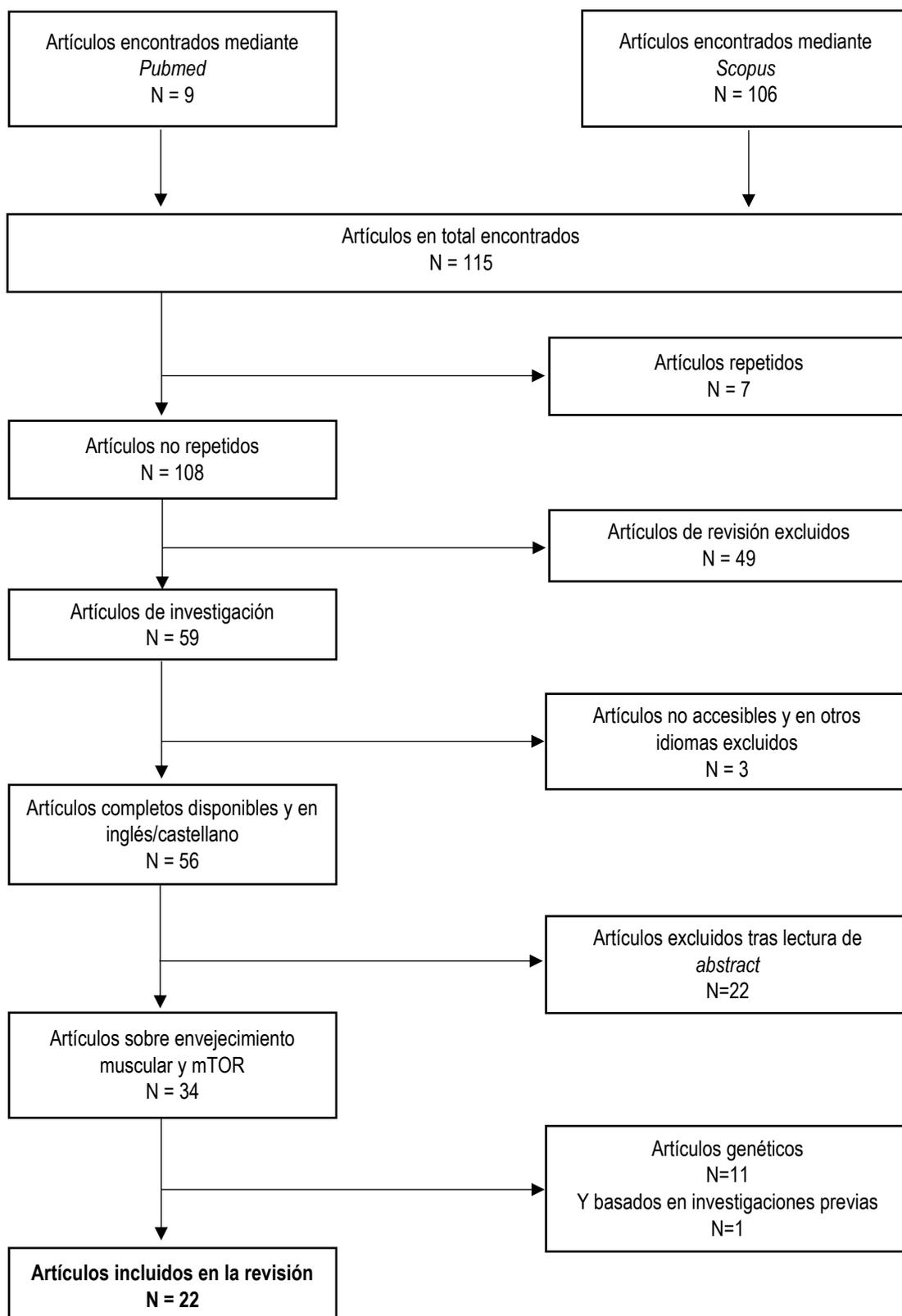


Figura 1: Diagrama de flujo del proceso de selección de los artículos empleados para realizar este trabajo.

4. RESULTADOS

La búsqueda bibliográfica aportó un total de 22 artículos basados en estudios de investigación. De los 22 artículos que se obtuvieron como resultado, 7 artículos trataban sobre estudios realizados en animales, 4 artículos sobre estudios realizados en modelos celulares y 10 artículos sobre estudios realizados en humanos. Por último, 1 estudio se trataba de un artículo mixto, considerado dentro de esta categoría debido a que en su realización fueron empleados tanto en humanos o animales como en modelos celulares.

4.1. ESTUDIOS REALIZADOS EN MODELOS ANIMALES

Como se menciona anteriormente, de la búsqueda bibliográfica se obtuvieron un total de 7 artículos que hablan sobre estudios de investigación realizados en modelos animales. El contenido de estos estudios aparece resumido en la **Tabla 1**. De estos, 1 artículo se trata de un estudio descriptivo y 6 artículos son estudios intervencionistas. Por último, de estos 6 estudios intervencionistas, en 5 la intervención realizada fue de carácter nutricional; mientras que en el artículo restante la intervención realizada fue electrofísica.

Una de las moléculas que más ha sido estudiada en la producción de sarcopenia ha sido 4E-BP1, que como hemos comentado anteriormente es una de las principales dianas de acción del complejo mTORC1. Esta molécula ha sido objeto de estudio en los artículos 26, 27, 28 y 29.

En el artículo 26 se llevó a cabo un estudio descriptivo en el que se analizaron los efectos del déficit de la proteína 4E-BP1 y 4E-BP2, para lo cual se emplearon 16 ratones BALB/c macho de 24 meses de edad, de los cuales 9 eran ratones transgénicos con doble *knockout* (DCO) 4E-BP1 y 4E-BP2 y 7 eran ratones *wild type*, conformando así dos grupos de estudio. Se tuvieron en cuenta variables antropométricas como la actividad y la ingesta, el gasto energético, la composición corporal medida por ecoRMN o la fuerza de agarre; y otras variables moleculares, pudiendo ser estudiadas gracias a la obtención de biopsias de músculo extensor largo de los dedos de todos los sujetos, como la síntesis muscular proteica, proteólisis, genotipo, metabolismo muscular y las vías de señalización anabólica muscular, entre las que se encuentra

mTOR. Tras analizar los resultados se observó que el déficit de 4E-BP1 y 4E-BP2 provoca una mejoría en la función y mantenimiento de la masa muscular que está presente durante el envejecimiento, lo cual podría estar ocasionado por una mayor síntesis proteica en los ratones DCO. Además, se llegó a la conclusión de que estas proteínas actúan como un importante modulador de la actividad de mTORC1 en el control funcional mitocondrial, aumentando la actividad de vías metabólicas como la glicólisis, el ciclo de Krebs y la síntesis de aminoácidos no esenciales.

En el artículo 27, ratones transgénicos con bloqueo en la vía Akt-S6K1 y ratones transgénicos DCO 4E-BP1 y 4E-BP2, conformando así dos grupos de estudio, fueron expuestos a una dosis de 2 mg/kg/día de rapamicina. Para valorar los efectos de la rapamicina en ambos grupos se tiene en cuenta tanto los cambios en el genotipo como los cambios en las vías de señalización anabólica muscular. Los resultados mostraron que las vías S6K1 y 4E-BP1, ambas dependientes de la fosforilación por mTOR, pueden mediar de forma independiente en el proceso de hipertrofia muscular inducida por Akt y, de esta forma, constituir dos dianas independientes clave para el efecto inhibitorio que posee la rapamicina. Además, se observa que S6K1 tiene importancia en el mantenimiento de la fuerza muscular en el envejecimiento.

En el artículo 28 se emplearon 72 ratones transgénicos con expresión de 4E-BP1 mutante en diferentes tejidos de 8 semanas de edad. Se dividió a la población del estudio en tres grupos experimentales: GC o grupo control, donde encontramos a 40 ratones transgénicos control; G1, grupo en el que encontramos 28 ratones con expresión de 4E-BP1 humano a nivel muscular; y G2, grupo en el que encontramos 14 ratones con expresión de 4E-BP1 humano a nivel del tejido adiposo. Para aumentar la expresión de 4E-BP1 tanto a nivel muscular como de tejido adiposo fueron sometidos a dosis de 0,1 mg/día durante 5 días de tamoxifeno a los grupos G1 y G2. Los efectos de la administración de tamoxifeno en la muestra de este estudio se evaluaron mediante estudios calorimétricos y de resistencia anaeróbica, así como analizando posibles cambios bioquímicos a nivel hematológico, tipo de fibras musculares, alteraciones a nivel de las vías de señalización anabólica muscular, síntesis muscular proteica o a nivel del DNA y actividad mitocondrial; para lo cual se obtuvieron diferentes biopsias tanto a nivel muscular como del tejido adiposo. Una vez analizados los resultados se

llegó a la conclusión de que la proteína 4E-BP1 constituye una importante diana terapéutica para retrasar el envejecimiento muscular debido a ser clave en la regulación de la actividad de la vía mTOR, cuya inhibición produce una mejoría del estado de salud y un aumento de la vida útil de las células musculares esqueléticas.

Por último, en el artículo 29 se emplearon ratones macho de 5 y 18 meses de edad a los que se les administró 50 mg/kg de peso de un extracto de hoja de níspero durante 5 semanas. Para realizar el estudio se conformaron 4 grupos experimentales, compuesto cada uno por 6 individuos: G1, grupo de jóvenes control; G2, grupo de jóvenes a los que se les administró 50 mg/kg de extracto de hoja de níspero; G3, grupo de adultos mayores control; G4, grupo de adultos mayores a los que se les administró 50 mg/kg de extracto de hoja de níspero. Para evaluar los efectos de esta intervención, se valoró la fuerza de agarre y el peso muscular; además de la concentración de proteínas musculares como son la miostatina, miogenina y miosina; actividad de la creatinquinasa y alteraciones en vías de señalización anabólica muscular. Para estudiar estas variables se recogieron biopsias de sóleo y de gastrocnemio de los individuos, además de emplear modelos celulares de miocitos C2C12 de ratón. Una vez analizados los resultados del estudio se concluyó que la administración de extracto de hoja de níspero potencia la diferenciación miogénica y tiene efecto protector frente a la atrofia y función muscular. Esto último podría deberse a que el extracto de hoja de níspero provoca la activación de las proteínas Akt, 70S6K y 4E-BP1, de tal forma que también aumenta la actividad de la vía mTOR; cuya actividad modula la síntesis proteica a nivel muscular esquelético.

Por otro lado, encontramos varios artículos en los que la intervención realizada ha consistido en la administración de rapamicina que, como hemos comentado anteriormente, es uno de los principales inhibidores de la actividad de mTOR, sobre todo del complejo mTORC1. En concreto, los estudios en los que se ha empleado la rapamicina como intervención forman parte de los artículos 27 (ya comentado con anterioridad) y 30.

En el artículo 30, 24 ratones macho de 24 y 6 meses de edad fueron sometidos a la administración de un análogo de la rapamicina (RAD001). Para realizar este estudio se dividió a los sujetos en tres grupos experimentales: GC, grupo control en el que

encontramos ratones de 6 meses a los que se les administró placebo durante 6 semanas; G1, grupo en el que encontramos 12 ratones de 24 meses a los que se les administró RAD001 una vez a la semana durante 6 semanas; y G2, grupo en el que encontramos 12 ratones de 24 meses a los que se les administró placebo durante 6 semanas. Se tuvieron en cuenta los efectos de RAD001 a nivel renal, hepático y muscular esquelético; teniendo en cuenta los niveles de glucosa y proteínas, concentración de RNA celular, cambios en el genoma y diferentes vías de señalización anabólica muscular. Para completar los resultados del estudio se emplearon células renales HEK293. Tras analizar los resultados del estudio se llegó a la conclusión de que un tratamiento a dosis bajas de RAD001 durante un corto período de tiempo reduce la expresión de los genes productores de la proteína c-Myc a nivel renal fundamentalmente y en menor medida a nivel muscular esquelético y hepático. Además, la administración de análogos de rapamicina también se ha relacionado con una menor actividad del complejo mTORC1.

Por último, nos restan dos artículos. En primer lugar, en el artículo 31 se realizó un estudio en el que se estudió el efecto de pulsos de ultrasonidos de baja intensidad (LIPUS) sobre 48 ratas Sprague Dawley macho a las que se les provocó atrofia muscular por medio de descarga de las extremidades posteriores. El estudio estuvo conformado por 4 grupos de estudio: G1, grupo control; G2, grupo con descarga de extremidades posteriores; G3, grupo con descarga de extremidades posteriores + LIPUS 30 mW/cm² durante 20 minutos/día; y G4, grupo con descarga de extremidades posteriores + LIPUS 80 mW/cm² durante 20 minutos/día. En todos los grupos experimentales la intervención tuvo una duración de 4 semanas. Para valorar los cambios provocados por la intervención realizada se tuvieron en cuenta el peso, la tensión y el espesor del músculo gastrocnemio medida por medio de electrodos, la actividad mioblástica y las vías de señalización anabólica muscular estudiadas a partir de la obtención de biopsias de músculo gastrocnemio de los sujetos. Para completar el análisis de los resultados, se emplearon mioblastos C2C12 de ratón. Una vez terminado el estudio, se llegó a la conclusión de que LIPUS actúa sobre la vía Akt/mTOR aumentando significativamente su actividad, de tal forma que promueve un aumento de la síntesis de aminoácidos a nivel muscular y un aumento de la proliferación mioblástica. Por lo tanto, LIPUS podría ser un posible tratamiento en aquellos sujetos

que presenten atrofia muscular debido a situaciones agravitacionales o sedentarismo prolongado.

Finalmente, en el artículo 32 se exponen los resultados de un estudio realizado con 50 ratas C57/BL6 de 12 meses de edad que fueron sometidas a diferentes concentraciones de triptófano (Trp) y kineurina (Kyn) durante 8 semanas. El estudio contó con 5 grupos de intervención: G1, ratas a las que se les administró un suero con 18% de proteína; G2, ratas a las que se les administró un suero con 8% proteínas + Trp 1,5 mM; G3, ratas a las que se les administró un suero con 8% de proteínas + Kyn 50 μ M; G4, ratas a las que se les administró un suero con 8% de proteínas + Kyn 100 μ M; y G5, ratas a las que se les administró un suero con 8% de proteínas + kyn 200 μ M. En este estudio se evaluó en los 5 grupos la composición corporal por medio de absorciometría dual de rayos X, los niveles de proteínas y los cambios en las vías de señalización anabólica muscular por medio de biopsias de músculo extensor largo de los dedos y de músculo tibial anterior. Para completar el estudio, se emplearon células C2C12 de ratón in vitro. Una vez analizados los resultados del estudio se llegó a la conclusión de que el triptófano induce la expresión de factores miogénicos. Además, este aminoácido por medio de la activación de IGF1 aumenta la masa muscular al activar la vía mTOR.

En conclusión, se ha podido observar la importancia de la molécula 4E-BP1, diana de acción de mTOR, en la generación de sarcopenia. En diferentes estudios realizados en ratones se observa que su inhibición podría mejorar la clínica ocasionada por la atrofia muscular durante el envejecimiento al aumentar de esta forma la síntesis muscular proteica. Sin embargo, dentro de los resultados de nuestra búsqueda bibliográfica hemos obtenido resultados contradictorios al respecto.

Por otro lado, se ha observado la importancia de los efectos de la rapamicina sobre la función de mTOR, inhibiéndolo y retrasando el fenómeno de senescencia celular. Además, se ha observado que la administración de pulsos de ultrasonidos de baja intensidad a ratas con atrofia muscular inducida aumenta la activación de mTOR, mejorando el metabolismo y proliferación de los miocitos. Por último, se ha observado que la suplementación con extracto de hoja de níspero y con triptófano favorece la síntesis muscular proteica favoreciendo la actividad de mTOR.

4.2. ESTUDIOS REALIZADOS EN MODELOS CELULARES

Una vez realizada la búsqueda bibliográfica se obtuvieron 4 artículos sobre estudios realizados a partir de modelos celulares, tanto humanos como animales. En todos los estudios, los modelos celulares empleados son sometidos a medios de diferenciación enriquecidos con diferentes componentes para evaluar sus efectos a nivel muscular. Estos estudios aparecen resumidos en la **Tabla 2**.

Una de las intervenciones realizadas dentro de los artículos realizados en modelos celulares que componen nuestra búsqueda ha sido la exposición de mioblastos de ratón a diferentes aminoácidos y a ácido beta hidroximetilbutírico (HMB). Estas intervenciones han sido realizadas en los artículos 33, 34 y 35.

El artículo 33 trata de un estudio realizado a partir de mioblastos obtenidos mediante biopsias de músculo vasto lateral a partir de mujeres jóvenes (N=8) y adultas mayores (N=8), que fueron sometidos a un medio de diferenciación enriquecido con glutamina (GDM) 0,5 g/l. Para realizar este estudio las muestras obtenidas fueron divididas en cuatro grupos experimentales: G1, mioblastos de mujeres jóvenes incubados en medio de diferenciación control; G2, mioblastos de mujeres jóvenes incubados en medio de diferenciación enriquecido con glutamina 0,5 g/l; G3, mioblastos de mujeres adultas mayores incubados en medio de diferenciación control; y G4, mioblastos de mujeres adultas mayores incubados en medio de diferenciación enriquecido con glutamina 0,5 g/l. Para valorar los efectos de la intervención realizada se tuvieron en cuenta el peso, altura, IMC, composición corporal medida por impedancia bioeléctrica, fuerza del cuádriceps y capacidad cardiorrespiratoria de los individuos; además de las vías de señalización anabólica muscular y síntesis muscular proteica. Una vez analizados los resultados del estudio se llegó a la conclusión de que los mioblastos de mujeres adultas mayores no disminuyen su respuesta a la suplementación con glutamina con respecto a mujeres jóvenes. A nivel molecular, no se observaron cambios en la activación de la vía mTOR, lo que sugiere que otras vías moleculares actúan en el proceso del envejecimiento muscular esquelético.

En el artículo 34 se muestran los resultados obtenidos en un estudio que se realizó a partir de mioblastos C2C12 de ratones jóvenes de 12 – 16 pasajes (N=9) y ratones adultos mayores de 44 – 48 pasajes (N=9) que fueron sometidos a medios de

diferenciación enriquecidos con leucina y ácido beta hidroximetilbutirínico (HMB). Para realizar este estudio se dividió la muestra en tres grupos experimentales, compuestos cada uno de ellos por mioblastos de 3 individuos jóvenes y 3 individuos adultos mayores: GC, en el que los mioblastos fueron sometidos a un medio de diferenciación control; G1, grupo en el que los mioblastos fueron sometidos a un medio de diferenciación enriquecido con leucina 10 mM; y G2, grupo en el que los mioblastos fueron sometidos a un medio de diferenciación enriquecido con HMB 10 mM. En los tres grupos de estudio la exposición a dichos medios de diferenciación tuvo una duración de 48 horas. Para analizar los resultados de esta intervención se valoró tanto la migración celular como la capacidad de reparación de daño tisular y las vías de señalización anabólica muscular. Tras finalizar el estudio se observó que los mioblastos de individuos jóvenes presentan una respuesta mayor a suplementos de leucina y HMB con respecto a mioblastos de adultos mayores. Por otro lado, se observó que la inhibición de mTOR podría reducir la migración, diferenciación y supervivencia de mioblastos jóvenes al ser regulado por PI3K/Akt y ERK/MAPK, vías reguladoras de mTOR que se ven activadas por la suplementación de HMB.

El artículo 35 se basa en un estudio que se realizó a partir de mioblastos C2C12 de ratón que fueron expuestos a diferentes medios de diferenciación. Los mioblastos empleados fueron divididos en dos grupos de estudio: Por un lado, en G1 encontramos mioblastos que fueron sometidos a un medio de diferenciación control enriquecido con TNF- α 20 ng/ml e IFN- γ 400 U/ml y, por el otro, en G2 encontramos mioblastos que fueron sometidos a un medio de diferenciación enriquecido con TNF- α 20 ng/mL, IFN- γ 400 U/ml y ácido beta hidroximetilbutirínico (HMB) 50 μ M. En ambos grupos experimentales la intervención duró 144 horas. Para valorar los efectos de la exposición a dichos medios de diferenciación se analizaron tanto las vías de señalización anabólica muscular como la expresión genética de los mioblastos. Tras estudiar los resultados se llegó a la conclusión de que la suplementación con ácido beta hidroximetilbutirínico podría ser empleado para la contención y tratamiento de la atrofia muscular. Esto es debido a que este compuesto activa la vía mTOR, favoreciendo la síntesis proteica por parte de los mioblastos.

Tabla 1: Artículos sobre ensayos en modelos animales en relación con el papel de mTOR en el envejecimiento muscular.

REF.	SUJETOS	INTERVENCIÓN			VARIABLES		CONCLUSIONES
		TIPO	GRUPOS	Duración	No moleculares	Moleculares	
26	N=16 Ratones macho 24 meses DKO 4EBP1/2 y <i>wild type</i>	D	G1: Ratones 4EBP1/2 (N=9) G2: Ratones <i>wild type</i> (N=7)	No	Actividad Ingesta y agua Gasto energético Comp. corporal (EcoRMN) Fuerza agarre	MPS Proteólisis SAM Genotipo Metabolismo muscular BMELD	El déficit de 4E-BP1/2 provoca una mejoría en la función y mantenimiento de masa muscular durante el envejecimiento a causa de una mayor síntesis proteica. 4E-BP1/2 activa a mTORC1 en el control funcional mitocondrial, activando la glicólisis, ciclo de Krebs y síntesis de aminoácidos no esenciales.
27	Ratones transgénicos con bloqueo Akt-S6K1 y DKO 4EBP1/2	N	G1: Ratones bloqueo Akt-S6K1 + rapamicina 2 mg/kg/día G2: ratones DKO 4EBP1/2 + Rapamicina 2 mg/kg/día	No	No	Genotipo SAM	S6K1 y 4EBP1 fosforilados por mTOR pueden mediar independientemente en la hipertrofia muscular inducida por Akt, siendo dos dianas clave para el efecto inhibitor de la rapamicina. S6K1 tiene importancia en el mantenimiento de la fuerza muscular
28	N=72 Ratones transgénicos 4EBP1 mutante 8 semanas de edad	N	GC: Ratones 4EBP1 mutante control (N=40) G1: Ratones 4EBP1 mutante en músculo + tamoxifeno 0,1 mg/día (N=28) G2: Ratones 4EBP1 mutante en adiposo + tamoxifeno 0,1 mg/día (N=14)	5 días	Estudios calorimétricos Resistencia aeróbica	Bioquímica sanguínea Tipo muscular SAM MPS DNA y actividad mitocondrial	La inhibición de la vía mTOR conlleva un aumento de vida útil y mejoría de la condición sanitaria de los individuos. Además, se observa que la proteína 4E-BP1 es una importante diana terapéutica a nivel del músculo esquelético por su efecto regulador sobre mTORC1.
29	N=24 Ratas macho 5 y 18 meses Células C2C12	N	N=6/grupo G1: Jóvenes control G2: Jóvenes + LE 50 mg/kg G3: Adultas control G4: Adultas + LE 50 mg/kg	5 semanas	Fuerza de agarre Peso muscular	Proteína muscular SAM Actividad CK SAM BG y BS	El extracto de hoja de níspero potencia la diferenciación miogénica, además de activar la vía mTOR y aumentar la síntesis muscular proteica a nivel muscular esquelético.

Tabla 1 (Continuación)

REF.	SUJETOS	INTERVENCIÓN			VARIABLES		CONCLUSIONES
		TIPO	GRUPOS	Duración	No moleculares	Moleculares	
30	N=24 Ratones macho 24 y 6 meses	N	GC: Ratas 6 meses placebo G1: Ratas 24 meses RAD001 1/semana (N=12) G2: Ratas 24 meses placebo (N=12)	6 semanas	No	Glucosa Proteínas [RNA] Genoma SAM	Dosis bajas y durante un periodo corto de tratamiento de RAD001 inactivan la vía mTORC1 fundamentalmente a nivel renal y en menor medida a nivel muscular. La administración de RAD001 se relaciona con una menor expresión de c-Myc.
31	N=48 Ratas macho con atrofia muscular Mioblastos C2C12 ratón	EF	G1: Control G2: DEP G3: DEP+30 mW/cm ² G4: DEP+80 mW/cm ²	4 semanas	Peso Tensión Gastrocnemio (electrodos) Espesor gastrocnemio	CCK-8 SAM BG	LIPUS promueve significativamente la activación de la vía mTOR, aumentando la proliferación mioblástica y el metabolismo muscular en sujetos con atrofia muscular
32	N=50 Ratas transgénicas C57/BL6 12 meses	N	G1: 18% P G2: 8% P + Trp 1,5 mM G3: 8% P + Kyn 50 µM G4: 8% P + Kyn 100 µM G5: 8% P + Kyn 200 µM	8 semanas	Composición corporal (DXA)	Proteínas SAM BMTA BMELD	Trp induce la expresión de factores miogénicos y estimula la vía IGF1 a nivel muscular, lo que ocasiona un aumento de masa muscular esquelética al modular la vía mTOR.

D: Descriptivo. N: Nutricional. EF: Electrofísico. GC: Grupo control. G: Grupo de estudio. DKO: Doble knockout. EcoRMN: EcoResonancia magnética. MPS: Síntesis muscular proteica. SAM: Señalización anabólica muscular. BMELD: Biopsia de músculo extensor largo de los dedos. LE: Extracto de hoja de níspero. CK: Creatinquinasa. BG: Biopsia de músculo gastrocnemio. BS: Biopsia de músculo sóleo. RAD001: Análogo de la rapamicina. DEP: Descarga de extremidades posteriores. CCK-8: Actividad mioblástica. LIPUS: Pulsos de ultrasonidos de baja intensidad. P: Proteína. Trp: Triptófano. Kyn: Kineurina. DXA: Absorciometría dual de rayos X. BMTA: Biopsia de músculo tibial anterior.

Por último, el artículo 36 se trata de un estudio en el que se emplean mioblastos C2C12 de ratón que son sometidos a diferentes concentraciones de $MgCl_2$ que oscilan entre 0,8 mM (considerado como control) y 100 mM durante 144 horas. Para completar el estudio se emplean ratones C57B/6J de 24 meses a los que se les ha inducido un daño muscular y a los que se les administran 50 mg/kg/día de $MgCl_2$ para evaluar la regeneración muscular. Para evaluar los resultados de la intervención se tienen en cuenta variables como la fuerza de agarre, síntesis muscular proteica, regeneración muscular y vías de señalización anabólica muscular. Estas variables fueron estudiadas apoyadas en la obtención de biopsias de músculo tibial anterior y músculo gastrocnemio de los ratones que formaron parte de este estudio. Tras analizar los resultados se llegó a la conclusión de que la administración de magnesio se relaciona con la activación de mTOR, 70S6K y 4E-BP1, que provocan un aumento de la síntesis muscular proteica, además de favorecer la hipertrofia de miotubos y la diferenciación mioblástica de las células madre musculares.

Como conclusiones de los estudios realizados a partir de modelos celulares podemos observar que tanto la suplementación con HMB como con magnesio favorecen la síntesis muscular proteica y la proliferación de los miocitos por medio de la activación de mTOR y sus dianas de acción, por lo que podrían ser considerados como posibles terapias frente a la sarcopenia. Por otro lado, se han observado resultados contradictorios respecto a la posible resistencia anabólica a la administración de aminoácidos presente a medida que aumenta la edad de los individuos. Sin embargo, estos resultados pueden no ser significativos al ser realizada la intervención con dos aminoácidos diferentes, en concreto glutamina y leucina.

4.3. ESTUDIOS MIXTOS

Tras realizar la búsqueda bibliográfica encontramos un artículo en el que se emplean tanto humanos como animales y modelos celulares. Este artículo se encuentra resumido en la **Tabla 3**. Se trata del artículo 37, en el que se exponen los resultados de un estudio descriptivo en el que participaron 110 varones y mujeres sanos y sanas, en concreto 35 jóvenes (18-35 años) y 75 adultos mayores (70-80 años) procedentes de Países Bajos. Además, se emplearon mioblastos procedentes de 23 mujeres, siendo 8 jóvenes (22-26 años), 9 adultas mayores con capacidad de caminar (84-90 años) y 6

Tabla 2: Artículos sobre ensayos en modelos celulares en relación con el papel de mTOR en el envejecimiento muscular.

REF.	MODELO CELULAR	INTERVENCIÓN		VARIABLES	CONCLUSIONES
		GRUPOS	T		
33	Mioblastos de mujeres jóvenes (N=8) y adultas mayores (N=8) Suecia	G1: jóvenes + DM G2: jóvenes + GDM 0,5g/l G3: adultas mayores + DM G4: adultas mayores + GDM 0,5g/l	48h	Composición corporal (IB) Fuerza cuádriceps (1-RM) Cap. Cardiorrespiratoria BMVL SAM MPS	Los mioblastos de adultos mayores responden de igual manera a la suplementación con glutamina con respecto a jóvenes, sin producir cambios en la activación de la vía mTOR.
34	Mioblastos C2C12 de ratones 12 – 16 (N=9) y 44 – 48 pasajes (N=9)	3 mioblastos jóvenes y 3 mayores por grupo: GC: DM control G1: DM + LEU 10 mM G2: DM + HMB 10 mM	48h	SAM Migración celular Reparación daño tisular	Mioblastos jóvenes tienen mayor respuesta a suplementos de LEU y HMB con respecto a mioblastos envejecidos. HMB estimula la proliferación, diferenciación y supervivencia mioblástica por medio de la activación de PI3K/Akt y ERK/MAPK, reguladoras de mTOR
35	Mioblastos C2C12 de ratón	G1: DM control G2: DM + HMB 50µM En ambos grupos TNF-α 20 ng/ml e IFN-γ 400 U/ml	144h	SAM Expresión genética	HMB activa la vía mTOR, lo que favorece la síntesis muscular proteica y podría ser empleado para tratar la pérdida de masa muscular.
36	Mioblastos C2C12 de ratón y ratones 24 meses C57B/6J	GC: MgCl ₂ 0,8 mM G1: MgCl ₂ 2,5 mM G2: MgCl ₂ 5 mM G3: MgCl ₂ 10 mM G4: MgCl ₂ 20 mM G5: MgCl ₂ 40 mM G6: MgCl ₂ 60 mM G7: MgCl ₂ 80 mM G8: MgCl ₂ 100 m;	144h	Fuerza de agarre Proteínas Regeneración muscular Peso muscular MPS BTA y BG SAM	La administración de magnesio activa mTOR, 70S6K y 4EBP1, ocasionando un aumento de MPS, hipertrofia de miotubos y favoreciendo la diferenciación mioblástica de células madre.

T: Duración. GC: Grupo control G: Grupo de estudio. DM: Medio de diferenciación. GDM: Medio de diferenciación enriquecido con glutamina. IMC: Índice de Masa Corporal. IB: impedancia bioeléctrica. 1-RM: Repetición máxima. BMVL: Biopsia de músculo vasto lateral. SAM: Señalización anabólica muscular. MPS: Síntesis muscular proteica. LEU: Leucina. HMB: Ácido beta hidroximetilbutirínico. TNF- α: Factor de necrosis tumoral α. IFN- γ: Interferón γ. BTA: Biopsia de músculo tibial anterior. BG: Biopsia de músculo gastrocnemio

adultas mayores sin capacidad de caminar (82-88 años). Por último, se emplearon ratones transgénicos con diferentes alteraciones en componentes clave en la vía anabólica proteica muscular. Los humanos que formaron parte de la muestra del estudio fueron divididos en tres grupos experimentales: un grupo de jóvenes, otro grupo de adultos mayores sedentarios y otro grupo de adultos mayores activos. Para evaluar los resultados del estudio se tuvieron en cuenta variables como el IMC, peso, altura, composición corporal y fuerza de contracción; además de los niveles de miostatina y moléculas relacionadas con la señalización anabólica muscular. Para estudiar estas variables se obtuvieron biopsias de músculo vasto lateral procedentes de 96 personas, 48 varones y 48 mujeres. Tras analizar los resultados obtenidos en el estudio se llegó a la conclusión de que los cambios relacionados con la edad en IGF1, Akt, mTOR o FoxO dependen tanto de la especie como del género del individuo, encontrando importantes diferencias entre ratones y humanos. Sin embargo, se observó en el músculo esquelético de ratones adultos mayores que mTORC1 se encontraba activado, relacionado con una disminución de los niveles de actividad de AMPK. Esto podría explicarse debido a que puede existir una resistencia a los factores de crecimiento a nivel muscular, de tal forma que se reduce el anabolismo proteico con la edad.

4.4. ESTUDIOS REALIZADOS EN HUMANOS

Los artículos restantes obtenidos tras realizar la búsqueda bibliográfica, en total 10 artículos, fueron estudios realizados en seres humanos sobre los que se realizaron diferentes tipos de intervención: por un lado, se realizaron intervenciones nutricionales (7 artículos), estudios que vienen resumidos en la **Tabla 4**; y por el otro se realizaron intervenciones de entrenamiento físico (1 artículo), entrenamiento electrofísico (1 artículo) e intervención de carácter químico (1 artículo); estudios que vienen resumidos en la **Tabla 5**.

4.4.1. Intervenciones nutricionales

En humanos, la administración de suplementos nutricionales ricos en aminoácidos esenciales ha sido una de las más realizadas e importantes para evaluar su utilidad

Tabla 3: Artículos sobre ensayos mixtos en relación con el papel de mTOR en el envejecimiento muscular.

REF.	SUJETOS	INTERVENCIÓN		VARIABLES	CONCLUSIONES
		TIPO	GRUPOS		
37	N=110. Varones y mujeres sanos 18-30 (N=35) y 70-80 años (N=75) Países Bajos	D	G1: mayores sedentarios G2: mayores activos G3: Jóvenes	IMC, Peso, Altura	Los cambios relacionados con la edad en IGF1, Akt, mTOR o FoxO, son especie y género dependiente. Se observó en ratones adultos mayores que mTORC1 se encuentra activado, relacionado con una disminución de los niveles de actividad de AMPK. Esto podría explicarse debido a que puede existir una resistencia a los factores de crecimiento a nivel muscular, de tal forma que se reduce el anabolismo proteico con la edad.
	Composición corporal				
	Fuerza de contracción				
	N=23. Mioblastos mujeres jóvenes 22-26 (N=8), adultas mayores ambulatorias 84-90 (N=9), adultas mayores no ambulatorias 82-88 (N=6)			Miostatina	
	Ratones transgénicos			IGF1 SAM BMVL	

D: Descriptivo. G: Grupo de estudio. IMC: Índice de Masa Corporal. SAM: Señalización Anabólica Muscular. BMVL: Biopsia de músculo Vasto Lateral

frente a la sarcopenia. Esta intervención, aunque empleando diferentes suplementos ricos en diversos aminoácidos, ha sido realizada en los estudios 38, 39, 40, 41 y 42.

En el artículo 38 se realizó un estudio en el que 16 varones sanos de entre 70 – 72 años procedentes del Reino Unido fueron divididos en dos grupos experimentales: por un lado, en G1 encontramos individuos que fueron sometidos a 20 g de Fresubin®, un preparado con aminoácidos esenciales + hidrolizado de proteína colágeno + proteínas de la leche, en monodosis tras realizar un ejercicio de extensión de rodilla y, tras 7 días, se administró únicamente un preparado de proteínas de la leche tras realizar el mismo ejercicio. En el otro grupo de estudio se administró primero el preparado de proteínas de la leche y tras 7 días se administró Fresubin®. Para evaluar los efectos de la intervención se tuvo en cuenta el IMC, peso, altura, composición corporal medida por absorciometría dual de rayos X y fuerza medida tomando las repeticiones máximas de los sujetos del estudio, además de los niveles de insulina, aminoácidos plasmáticos, masa magra, síntesis muscular proteica y vías de señalización anabólica muscular. Para estudiar estas variables fue necesaria la obtención de biopsias del músculo vasto lateral de los individuos. Tras analizar los resultados se llegó a la conclusión de que un preparado con proteínas de la leche e hidrolizado de colágeno aumenta la actividad de la vía mTOR y aumenta los niveles de leucina en plasma, favoreciendo la síntesis muscular proteica.

En el artículo 39, 20 varones sanos obesos y con Diabetes Mellitus tipo II (DM II) de entre 62 -74 años procedentes del Reino Unido fueron divididos en dos grupos experimentales: un grupo control, en el que se encuentran 12 varones sanos obesos y un grupo de intervención en el que encontramos 8 pacientes con DM II. En ambos grupos de estudio la intervención realizada consistió en la administración de 10 y 20 g de aminoácidos esenciales tras 3 horas desde la última ingesta, siendo valorados sus efectos pasadas otras 3 horas (duración del estudio de 6 horas). Para evaluar los efectos de esta intervención se tuvieron en cuenta variables como el IMC, peso, altura y composición corporal medida por absorciometría dual de rayos X; además de otras variables como los niveles de insulina y glucosa en plasma, el ratio fraccional de síntesis proteica miofibrilar y sarcoplásmica y las vías de señalización anabólica muscular. Una vez analizados los resultados del estudio se observaron dos hechos

contradictorios tras la administración de 20 g de aminoácidos esenciales: el ratio fraccional de síntesis proteica miofibrilar en diabéticos es similar con respecto a sanos obesos, acompañado de una disminución de la fosforilación a nivel de mTOR, 70S6K y 4E-BP1 en diabéticos en comparación con sanos obesos. Es debido a esto que se concluye que la pérdida muscular que se observa en pacientes con DMII podría estar relacionada con una reducción de la actividad física y no con un aumento de la resistencia anabólica.

El artículo 40 se trata de un estudio en el que 19 varones y mujeres, sedentarios y sanos, de entre 67 – 85 años de nacionalidad estadounidense fueron divididos en dos grupos experimentales: un grupo control y otro grupo en el que los sujetos fueron sometidos a la ingesta de aminoácidos esenciales seguido de tres entrenamientos aeróbicos por semana durante un periodo de tiempo de 12 semanas. Se tuvieron en cuenta diferentes variables como el IMC, peso, composición corporal medida por absorciometría dual de rayos X y fuerza medida con un dinamómetro. Por otro lado, se tuvieron en cuenta otras variables moleculares como los niveles plasmáticos de glucosa y aminoácidos esenciales, además de la síntesis muscular proteica y las vías de señalización anabólica muscular, analizados gracias a la obtención de biopsias de músculo vasto lateral de los individuos. Una vez analizados los resultados se llegó a la conclusión de que los adultos mayores sanos no presentan una resistencia al anabolismo muscular proteico.

El artículo 41 expone los resultados de un estudio realizado en 16 varones sanos y activos de entre 67 y 73 años procedentes del Reino Unido que fueron divididos en dos grupos de estudio: Por un lado, un grupo en el que se administró 15 g de aminoácidos esenciales a 8 sujetos y, por otro lado, otro grupo en el que se administró 15 g de aminoácidos esenciales + 3 g de leucina a los 8 sujetos restantes. El período de tiempo del estudio fue de 7 horas, obteniendo biopsias y analíticas al inicio para tener datos en situación basal, administrando los 15 g de aminoácidos esenciales a las 3 horas del inicio y administrando los 3 g de leucina a las 4h 30min del inicio del estudio. Para evaluar los resultados del estudio se tuvieron en cuenta variables antropométricas como el IMC, peso, altura, fuerza de agarre en las manos y masa muscular apendicular; además de otras variables moleculares como los niveles plasmáticos de insulina y aminoácidos, ratio fraccional de síntesis proteica en

miocitos, vías de señalización anabólica muscular y metabolismo muscular energético. Para el estudio de estas variables se obtuvieron biopsias de músculo vasto lateral de todos los sujetos que participaron en el estudio. Tras analizar los resultados se llegó a la conclusión de que la administración de 15 g de aminoácidos esenciales provoca un estado de hiperaminoacidemia plasmática, estimulando así la síntesis muscular proteica hasta que se alcanza el estado de “músculo lleno” pasadas entre 3 y 4 horas desde la ingesta. Sin embargo, tras la administración de 3 g de leucina se provoca un aumento en los niveles de aminoácidos en plasma que no se ve acompañado por un aumento en la síntesis muscular proteica. A nivel molecular, no se observan diferencias entre la administración o no de 3 g de leucina, observándose mayor anabolismo proteico muscular asociado con la administración de suplementos aminoacídicos externos debido a alteraciones en la vía mTORC1 y sus reguladores 4E-BP1 y 70S6K. Resumiendo todo lo anterior, se llega a la conclusión de que la administración de suplementos de leucina en gente mayor sana y activa podría ser útil entre comidas o como suplemento en dietas pobres en proteínas.

En el artículo 42 se realizó un estudio a partir de 42 varones y mujeres sanos con un estilo de vida sedentaria de entre 55 y 70 años procedentes de Canadá. Los sujetos del estudio fueron divididos en tres grupos experimentales: GC, grupo control en el que se administró placebo (N=14); G1, grupo en el que se administró L-carnitina 1500 mg (N=14); y G2: grupo en el que se administró L-carnitina 1500 mg + L-leucina 2000 mg + creatina monohidrato 3000 mg + vitamina D3 0,01 mg (N=14). En todos los grupos de estudio la intervención tuvo una duración de 8 semanas. Para valorar los efectos de los suplementos nutricionales administrados se analizaron variables como el IMC, composición corporal por medio de absorciometría dual de rayos X, fuerza del sujeto por medio de dinamometría y distancia caminada durante 6 minutos. Además, se analizó la activación de diferentes vías de señalización anabólica muscular por medio de la obtención de biopsias de músculo vasto lateral de todos los sujetos. Tras realizar un análisis exhaustivo de los resultados del estudio se observó que la administración de L-carnitina junto con leucina, creatina monohidrato y vitamina D3 produce un aumento significativo de masa magra y fuerza muscular, fundamentalmente en piernas, que podría explicarse por una mejoría en la síntesis proteica, biodisponibilidad de aminoácidos y disminución de la degradación proteica.

Esto podría explicarse gracias a que este suplemento provoca un aumento de los niveles de mTOR de un 81% a nivel muscular.

Por otro lado, restan dos artículos realizados en humanos con intervenciones nutricionales. El primero de ellos, el artículo 43, se trata de un estudio en el que 18 varones activos, sanos y no hipogonadales de entre 65 – 75 años procedentes del Reino Unido fueron divididos en dos grupos de estudio: por un lado, un grupo control en el que 9 sujetos fueron sometidos a la administración de placebo cada dos semanas unido a entrenamiento de resistencia durante 6 semanas; por otro lado, un grupo intervención en el que 9 sujetos fueron sometidos a la administración de 250 mg de testosterona cada dos semanas unido a entrenamiento físico de resistencia durante 6 semanas. Para analizar los resultados de dicha intervención se tuvo en cuenta el peso, altura, IMC, contracción voluntaria máxima, fuerza máxima, composición corporal medida por absorciometría dual por rayos X y arquitectura muscular por medio de ultrasonidos; además de otras variables moleculares como la síntesis muscular proteica, concentraciones de testosterona obtenidas a partir de analíticas sanguíneas, vías de señalización anabólica muscular, expresión de genes relacionados con la miogénesis, niveles de IGF-1 y ratio fraccional de síntesis proteica, variables que fueron estudiadas gracias a la obtención de biopsias de músculo vasto lateral de los individuos. Una vez analizados los resultados del estudio se llegó a la conclusión de que la administración de testosterona exógena unida a entrenamiento físico de resistencia provoca una mejoría a nivel muscular debido a una mayor síntesis proteica. Esto podría estar relacionado con la capacidad de la testosterona de activar la vía IGF1/Akt/mTOR. Por lo tanto, la administración de testosterona exógena junto con entrenamiento físico de resistencia podría ser considerado un posible tratamiento contra la atrofia y pérdida de masa muscular.

Por último, el artículo 44 se trata de un estudio en el que 20 varones y mujeres sanos y sanas de 60 – 85 años procedentes de Estados Unidos fueron divididos en dos grupos experimentales: por un lado, un grupo control en el que los individuos tomaron 4 píldoras (2 en el desayuno y 2 en la cena) de aceite de maíz al día y, por otro lado, en el grupo intervención se administraron 4 píldoras de 1 gramo de LOVAZA® al día (2 en el desayuno y 2 en la cena), aceite de pescado derivado de n3-PUFA y compuesto por 1,86 g de ácido eicosapentaenoico + 1,5 g de ácido docosahexaenoico. En ambos

grupos de estudio la intervención tuvo una duración de 24 semanas. Para valorar los efectos de la intervención se tuvieron en cuenta variables antropométricas como el IMC, composición corporal medida a partir de resonancia magnética, fuerza de agarre en las manos medida con un dinamómetro y la fuerza muscular. Además, se tuvieron en cuenta otras variables como la expresión genética, el contenido graso de los eritrocitos y las vías de señalización anabólica muscular, estudiadas gracias a la obtención de biopsias de músculo vasto lateral de los sujetos del estudio. Tras realizar un estudio exhaustivo de los resultados se llegó a la conclusión de que n3-PUFA produce cambios en genes reguladores de la función mitocondrial y de la organización de la matriz extracelular relacionados con el crecimiento, estructura celular y metabolismo oxidativo; además de una significativa reducción de inhibidores de la vía mTOR, provocando una mayor actividad de esta. Estos cambios pueden explicar que la administración de n3-PUFA tenga un efecto anabólico y funcional a nivel muscular. Estos artículos llegan a la conclusión global de que la medida terapéutica que está siendo más estudiada en el ámbito de las intervenciones nutricionales en el tratamiento de la sarcopenia es la administración de suplementos con aminoácidos esenciales. Los resultados encontrados son positivos, dado a que se ha observado que al aumentar la ingesta aminoacídica y proteica se incentiva la activación de mTOR y, de esta forma, aumenta la síntesis muscular proteica. Por otro lado, se ha observado que tanto la testosterona como el aceite de pescado derivado de n3-PUFA son posibles tratamientos debido a que, al igual que la administración de suplementos de aminoácidos, también favorecen la síntesis muscular proteica actuando sobre la vía mTOR. Además, en varios estudios se ha observado que la atrofia muscular no está relacionada con un aumento de la resistencia anabólica relacionada con la edad.

4.4.2. Otras intervenciones

Por último, nos encontramos con tres artículos en los que se realizan tres intervenciones diferentes: en el artículo 45 se realiza una intervención electrofísica, en el artículo 46 se sigue un programa de entrenamiento físico controlado y en el artículo 47 se realiza una intervención de carácter químico.

El artículo 45 consiste en la descripción de un estudio realizado a partir de 18 varones sanos de entre 68 – 70 años de origen neerlandés. Para realizar el estudio, en todos los individuos se realizó una terapia basada en 70 minutos de estimulación neuromuscular eléctrica y en la otra un tratamiento simulado, conformando cada pierna parte de uno de los dos grupos de estudio. Para analizar los resultados de la intervención se tuvieron en cuenta variables como el IMC, peso, altura, composición corporal medida por absorciometría dual de rayos X y el área de corte del cuádriceps. Además, se tuvieron en cuenta otros valores analíticos como son los niveles de insulina, glucosa, HbA1c y proteínas plasmáticas; además de las vías de señalización anabólica muscular, que fueron analizados gracias a la obtención de biopsias del músculo vasto lateral de ambas piernas de los sujetos del estudio. Tras analizar los resultados del estudio se observó que el empleo de estimulación neuromuscular eléctrica no aumentó el uso por parte de los miocitos de aminoácidos derivados de la ingesta de proteínas alimentarias para la síntesis muscular de novo. Por otro lado, se observó un aumento de la fosforilación tanto de mTOR como de p70S6K tras la estimulación neuromuscular eléctrica.

El artículo 46 se trató de un estudio realizado en 28 varones velocistas sanos de entre 40 – 76 años de nacionalidad finlandesa que fueron divididos en dos grupos experimentales: Un grupo control, en el que 13 sujetos siguieron su plan de entrenamiento habitual durante 20 semanas; y un grupo intervención en el que 15 sujetos siguieron un plan de entrenamiento de 20 semanas de duración con ejercicios de fuerza además de su entrenamiento habitual. Para estudiar los efectos de la intervención se tuvieron en cuenta variables antropométricas como la altura, IMC, composición corporal medida por impedancia bioeléctrica, espesor del músculo vasto lateral medido por ultrasonidos y capacidad de realizar un sprint de 60 metros y de realizar saltos en cuclillas. Además, se tuvieron en cuenta los niveles proteicos y la señalización anabólica muscular, valores obtenidos a partir de biopsias de músculo vasto lateral de los individuos del estudio. Una vez analizados los resultados se llegó a la conclusión de que un entrenamiento consistente en la combinación de ejercicios de fuerza y de velocidad permite mejorar la capacidad de las células musculares de reutilizar material generado por el daño celular. Por otro lado, se observó que no existe relación entre la edad relativa y el incremento de actividad mTOR basal.

El artículo 47 expone los resultados de un estudio descriptivo en el que se miden los

Tabla 4: Artículos sobre ensayos en humanos en relación con el papel de mTOR en el envejecimiento muscular.

REF.	SUJETOS	INTERVENCIÓN		VARIABLES		CONCLUSIONES
		GRUPOS	Duración	Antropometría Pruebas físicas	Moleculares	
38	N=16 Varones sanos 70-72 años Reino Unido	G1: 20 g Fresubin® + MP tras 7 días G2: Proceso contrario	1 semana	IMC, Peso, Altura Comp. corporal (DXA) Fuerza (1-RM)	Insulina Aminoácidos Masa magra MPS SAM BMVL	Un preparado con CP y MP aumenta la actividad de la vía mTOR y aumenta la concentración de leucina en plasma, favoreciendo la síntesis muscular proteica
39	N=20 Varones sanos obesos y DMII 62-74 años Reino Unido	GC: sanos obesos (N=12) G: DMII (N=8) En ambos: administración de 10 y 20 g EAA	6 horas	IMC, Peso, Altura Comp. corporal (DXA)	Insulina, Glucosa Leucina FSR proteica SAM	Tras la administración de EAA en DMII se observa una menor fosforilación de mTOR y un similar ratio fraccional de síntesis proteica con respecto a sanos obesos.
40	N=19 Varones y mujeres sedentarios y sanos 67-85 años EEUU	GC: control G1: ingesta de EAA + 3 entrenamientos de resistencia por semana	12 semanas	IMC, Peso Comp. corporal (DXA) Fuerza (dinamometría)	Glucosa MPS EAA SAM BMVL	No se observa mayor resistencia anabólica a nivel muscular en adultos mayores, aunque sí podría estar presente en pacientes enfermos
41	N=16 Hombres sanos y activos 67-73 años Reino Unido	G1: 15 g de EAA (N=8) G2: 15 g de EAA + 3 g LEU (N=8)	7 horas	IMC, Peso, Altura Fuerza de agarre manos Masa muscular apendicular	Insulina Aminoácidos FSR proteica SAM MME BMVL	15 g de EAA provocan cambios a nivel de mTORC1 y sus reguladores 4E-BP1 y 70S6K que favorecen el anabolismo muscular. No se observan diferencias con la administración de 3 g de LEU a nivel de MPS
42	N=42 Hombres y mujeres sanos y sedentarios 55-70 años Canadá	GC: Placebo (N=14) G1: L-carnitina (N=14) G2: L-carnitina + L-LEU + creatina + vitD3 (N=14)	8 semanas	IMC Comp. corporal (DXA) Fuerza (dinamometría) Distancia caminada 6'	SAM BMVL	L-carnitina en combinación con LEU, creatina y VitD3 aumentó significativamente la masa magra muscular y la fuerza funcional, probablemente debido a una mejoría de la síntesis proteica, biodisponibilidad de aminoácidos y menor degradación proteica por la vía mTOR

Tabla 4: (Continuación)

REF.	SUJETOS	INTERVENCIÓN		VARIABLES		CONCLUSIONES
		GRUPOS	Duración	Antropometría Pruebas físicas	Moleculares	
43	N=18 Varones sanos, activos, no hipogonadales 65 – 75 años Reino Unido	GC: Placebo/2 semanas + entrenamiento GI: Testosterona 250 mg/2 semanas + entrenamiento	6 semanas	Peso, Altura, IMC MVC 1-RM Comp. corporal (DXA) Arquitectura muscular (US)	MPS [T] (AS) SAM Miogénesis IGF1 BMVL FSR proteica	La administración de testosterona junto con la realización de entrenamientos de resistencia se relaciona con una mejoría muscular al aumentar la síntesis proteica al activar la vía mTOR
44	N=20 Hombres y mujeres sanos 60-85 años EEUU	GC: 4 píldoras de aceite de maíz/día (N=10) GI: 4 g LOVAZA®/día (N=10)	24 semanas	IMC Comp. corporal (RMN) Fuerza agarre manos (dinamómetro) Fuerza muscular	Expresión genética Contenido n3- PUFA eritrocitos SAM BMVL	n3-PUFA reduce los niveles de inhibidores de la vía mTOR, aumentando así su actividad. Se observa aumento de expresión de genes reguladores de la función mitocondrial y organizadores de matriz extracelular.

GC: Grupo control. G: Grupo de estudio. Fresubin®: Hidrolizado de proteína colágeno + proteína de leche (CP + MP). MP: Proteína de leche. IMC: Índice de masa corporal. DXA: Absorciometría dual de rayos x. 1-RM: Repetición máxima. MPS: Síntesis muscular proteica. SAM: Señalización anabólica muscular. BMVL: Biopsia de músculo vasto lateral. EAA: Aminoácidos esenciales. DM II: Diabetes Mellitus tipo II. FSR: Ratio fraccional de síntesis. LEU: Leucina. MME: Metabolismo muscular energético. MVC: Contracción voluntaria máxima. US: Ultrasonidos. T: Testosterona. AS: Analítica sanguínea. LOVAZA®: 1,86 g ácido eicosapentaenoico + 1,5 g ácido docosahexaenoico. RMN: Resonancia Magnética Nuclear. N3-PUFA: Aceite derivado de pescado.

niveles de Proteína C Reactiva (PCR), importante marcador inflamatorio, a 118 mujeres sanas de entre 65 y 69 años de nacionalidad sueca para valorar su efecto a nivel muscular. Además, se realiza una biopsia de músculo vasto lateral a 7 individuos de la muestra para evaluar los efectos de este marcador inflamatorio *in vitro*, siendo divididos los mioblastos obtenidos en dos grupos: un grupo control, en el que los mioblastos son incubados en un medio de diferenciación control; y un grupo intervención, en el que los mioblastos son incubados en un medio de diferenciación junto a 50 µg/ml de PCR. Para analizar los resultados del estudio se tienen en cuenta variables como el IMC, peso, altura, masa muscular medida por medio de bioimpedancia eléctrica, composición corporal y fuerza en extensión máxima de rodilla; además de medirse los niveles de PCR por medio de una analítica sanguínea, el diámetro de los miotubos y las vías de señalización anabólica muscular. Tras concluir el estudio se llegó a la conclusión de que niveles elevados de PCR se relacionan con una disminución de la masa muscular por medio de dos mecanismos: reducción del tamaño de los miocitos y de su síntesis proteica al disminuir la fosforilación de Akt y, así, disminuir la actividad de la vía anabólica mTOR.

De estos tres últimos estudios se pueden sacar varias conclusiones. En primer lugar, se observó que la administración de sesiones de estimulación neuromuscular eléctrica no provoca un aumento de la síntesis muscular proteica a pesar de producir un aumento de la activación de mTOR. Por otro lado, se ha observado que el ejercicio físico de fuerza puede ayudar a disminuir la sarcopenia al mejorar la función celular sin intervenir en este caso una mayor actividad de mTOR. Por último, se ha observado que un aumento de los niveles de PCR favorece la atrofia muscular al provocar una inhibición de la actividad de mTOR.

Tabla 5: Otros artículos sobre ensayos en humanos en relación con el papel de mTOR en el envejecimiento muscular.

REF.	SUJETOS	INTERVENCIÓN			VARIABLES		CONCLUSIONES
		TIPO	GRUPOS	Duración	Antropometría Pruebas físicas	Moleculares	
45	N=18 Varones sanos 68-70 años Países Bajos	EF	GI: 70 minutos de NMES en una pierna GC: tratamiento simulado pierna contralateral	7,5 horas	IMC, Peso, Altura Comp. Corporal (DXA) Cuádriceps área de corte	Insulina, Glucosa, HbA1c Proteínas SAM BMVL	NMES no aumenta el uso de aminoácidos derivados de proteínas alimentarias para la síntesis muscular <i>de novo</i> . Aumento de fosforilación de mTOR y P706SK tras NMEs
46	N=28 Varones velocistas sanos 40-76 años Finlandia	E	GC: entrenamiento habitual (N=13) GI: entrenamiento de fuerza y entrenamiento habitual (N=15)	20 semanas	Altura, IMC Comp. Corporal (IB) Espesor vasto lateral (US) Sprint de 60m y salto en cuclillas	Proteínas SAM BMVL	El entrenamiento combinado de fuerza y velocidad mejora la capacidad celular de reciclaje de material de daño celular. No existe relación entre la edad relativa y el incremento de actividad mTOR basal
47	N=118 Mujeres sanas 65-69 Suecia	D	GC: Control GI Exposición a PCR 50 µg /ml	72 horas	IMC, Peso, Altura Masa muscular (IB) Comp. Corporal Extensión máxima de rodilla	Analítica SAM Diámetro miotubos BMVL	La elevación del nivel de PCR se asocia con una disminución de la masa muscular a causa de una reducción del tamaño celular y síntesis proteica relacionado con la menor activación de mTOR vía Akt y AMPk

EF: Electrofísica. E: Entrenamiento. D: Descriptivo. GC: Grupo control. GI: Grupo intervención. IMC: Índice de masa corporal. DXA: Absorciometría dual de rayos X. SAM: Señalización anabólica muscular. BMVL: Biopsia de músculo vasto lateral. NMES: Estimulación neuromuscular eléctrica. Aas: Aminoácidos. IB: Impedancia bioeléctrica. US: Ultrasonidos. PCR: Proteína C Reactiva.

5. DISCUSIÓN

5.1. mTOR Y SUS DIANAS EN EL ENVEJECIMIENTO MUSCULAR

Tras analizar los resultados podemos llegar a varias conclusiones. A nivel molecular, se ha observado que la inhibición de 4E-BP1 podría retrasar la aparición de sarcopenia y toda la sintomatología que la acompaña. Por otro lado, se ha observado que aquellos individuos que presentan niveles elevados de PCR desarrollarán con mayor facilidad atrofia muscular.

En primer lugar, Le Bacqer *et al.* (26) demuestran en su estudio que la inhibición de 4E-BP1 podría aumentar la síntesis muscular proteica y favorecer así un aumento de masa y función muscular. Sin embargo, existen estudios previos que contradicen estos resultados. Tsai *et al.* (30) concluyen que la activación de 4E-BP1 es beneficiosa a nivel del músculo esquelético. A pesar de ello, se ha comprobado que la activación de 4E-BP1 ocasiona un aumento del gasto energético celular y un aumento de la autofagia, que podría ocasionar atrofia muscular. (48) Aun así, previamente se ha mencionado que 4E-BP1 es una diana de acción del complejo mTORC1, observándose en determinados estudios que un bloqueo completo de la función de mTOR es uno de los factores principales que producen sarcopenia al inhibir de esta forma la síntesis muscular proteica (49). Por otro lado, se ha observado que los niveles de otros reguladores de la síntesis muscular proteica como FoxO y Akt se encuentran aumentados cuando 4E-BP1 se encuentra aumentado (24).

Por otro lado, se ha estudiado que la elevación de los niveles de PCR disminuye la activación de mTOR, asociándose a una disminución de la masa muscular. Estudios previos han concluido que la elevación crónica de marcadores inflamatorios es un regulador de la masa muscular, ocasionando una reducción en la proliferación miogénica y una reducción de la síntesis muscular proteica al reducir la fosforilación y, por tanto, activación de Akt, regulador de la actividad de mTOR (50).

5.2. MEDIDAS TERAPÉUTICAS CON ACCIÓN SOBRE mTOR PARA EL ENVEJECIMIENTO MUSCULAR

En cuanto a las medidas terapéuticas que tienen como diana a mTOR, se han estudiado varias opciones. En primer lugar, se ha concluido que la rapamicina podría retrasar el

envejecimiento celular al inhibir mTOR. Por otro lado, se ha analizado la administración de diferentes suplementos con resultados favorables en el tratamiento de la sarcopenia, en concreto suplementos de HMB, magnesio, testosterona, n3-PUFA y aminoácidos. Además, Sun *et al.* (27) han realizado un estudio cuya conclusión es que la administración de pulsos de ultrasonidos de baja intensidad aumenta la actividad de mTOR, favoreciendo la proliferación y metabolismo de los miocitos. Para terminar, se ha definido que la práctica de entrenamientos de fuerza puede retrasar la aparición de sarcopenia, aunque sin actuar por la vía de mTOR. Por otro lado, se ha observado que la aplicación de estimulación neuromuscular eléctrica aumenta la actividad de mTOR sin tener esta acción representativa a la hora de aumentar la síntesis muscular proteica (27).

5.2.1. Administración de rapamicina

Diferentes estudios han demostrado que la administración de análogos de la rapamicina se ha asociado a un aumento de la esperanza de vida en diferentes especies (51). Como se ha mencionado anteriormente, la rapamicina es el principal inhibidor de la función de mTORC1, complejo que, al ser inhibido, reduce la síntesis muscular proteica, así como la proliferación celular, favoreciendo la aparición de sarcopenia (52). Además, se ha observado que la administración de análogos de rapamicina ocasiona una menor activación de los genes productores de la proteína c-Myc. Una menor expresión de c-Myc ha implicado en diversos estudios un aumento de la supervivencia celular, además de una disminución de la actividad del complejo mTORC1 (53).

5.2.2. Suplementos nutricionales

Otra de las acciones terapéuticas que han sido estudiadas en los artículos que conforman la revisión bibliográfica realizada ha sido la suplementación dietética con diferentes sustancias como HMB, magnesio, testosterona, n3-PUFA y aminoácidos.

Se ha observado que la administración de HMB en células C2C12 promueve la activación de mTOR, favoreciendo de esta manera la síntesis muscular proteica. Esta activación de mTOR se realiza por la vía PI3K/Akt, vía relacionada con la síntesis muscular proteica y que promueve, a parte de una mejoría de la función de mTOR, la

hipertrofia de miocitos de músculo esquelético. Además de este efecto sobre la vía mTOR, se ha observado que su administración también se ha relacionado con un aumento de la fosforilación de FoxO, genes relacionados con el metabolismo, apoptosis y ciclo celular; además de jugar un importante papel en la regulación del sistema ubiquitina – proteasoma, cuya actividad se encuentra aumentada en miocitos atroficos (54).

Por otro lado, se ha estudiado la administración de suplementos de magnesio. Esta catión es muy importante a nivel muscular, observándose que en el músculo esquelético se encuentra aproximadamente un 27% de todo el magnesio corporal (55). Se ha observado que la administración de magnesio y su unión con ATP promueve la activación de una cascada de kinasas que termina con la fosforilación y, por tanto, activación de mTOR; que aumenta la síntesis muscular proteica y favorece la diferenciación miogénica a nivel de las células madre musculares, promoviendo así la regeneración muscular en individuos envejecidos (56). A nivel clínico, se ha observado que la administración de suplementos de magnesio promueve un aumento de fuerza de agarre, potencia muscular en piernas y aumento de masa muscular esquelética (57).

También se ha analizado la administración de suplementos de testosterona, observándose su efecto tanto en fibras de tipo I como de tipo II pese a que las fibras más afectadas por la senescencia muscular son las de tipo II (58). El efecto que tiene la administración de suplementos de testosterona durante la realización de entrenamientos de resistencia se basa en un aumento de la síntesis muscular proteica y un mayor ratio fraccional de recambio proteico, siendo el balance proteico positivo (59). Esto está relacionado con una mejoría de la actividad de la vía IGF1/Akt/mTOR, reguladora de la síntesis muscular proteica y que realiza su función de forma más errática en individuos envejecidos (60). Por otro lado, la activación de la vía Akt/mTOR aumenta la expresión del gen PGC1- α , regulador de la función mitocondrial, y que se encuentra disminuido en individuos adultos mayores, ocasionando una disminución de la actividad enzimática y del metabolismo oxidativo a nivel mitocondrial (61).

Yoshino *et al.* (43) concluyeron en su estudio que n3-PUFA aporta beneficios tanto a nivel de masa como de función muscular. En concreto, n3-PUFA produce sus efectos aumentando la expresión de UQCRC1 y UCP3, genes reguladores de la función mitocondrial, así como inhibiendo el sistema ubiquitina proteasoma y reduciendo la actividad de los inhibidores de la vía mTOR, de tal forma que n3-PUFA reduce la proteólisis y aumenta la síntesis proteica a nivel muscular (43).

Se conoce que una dieta rica en aminoácidos esenciales favorece la síntesis muscular proteica (61). Por ello, ha sido evaluado el efecto de la suplementación proteica en adultos mayores. La administración de suplementos de aminoácidos provoca un aumento de los niveles de aminoácidos plasmáticos, aumentando así la síntesis muscular proteica (62). Además, se ha observado que la leucina, un potente activador de la vía mTOR tiene mayor efecto en dietas pobres en proteínas o entre comidas al no aumentar la síntesis muscular proteica cuando los niveles de aminoácidos son óptimos (41). Por otro lado, se ha observado que la suplementación en un corto período de tiempo con L-Carnitina aumenta la masa y fuerza muscular aumentando notablemente los niveles de mTOR (62).

La administración de un hidrolizado de colágeno con proteínas de la leche favorece una mayor disposición de leucina a nivel celular, además de ocasionar un aumento de la señalización mTOR y, así, de la síntesis muscular proteica. Esto puede ser debido a que tras la administración de suplementos con hidrolizado de proteína colágeno y proteína de la leche se han observado en plasma péptidos procedentes del colágeno con capacidad de aumentar la actividad de la vía Akt/mTOR, favoreciendo así el anabolismo muscular (63).

Por otro lado, la administración de suplementos de triptófano y su metabolito kineurina también provocan un aumento de la síntesis muscular proteica al estimular la vía IGF-1 a nivel muscular, aumentando así la actividad de EIF4, 70S6K y mTOR; importantes reguladores del metabolismo anabólico proteico muscular. Además, aumentan la expresión de factores miogénicos (64).

También fueron evaluados los efectos de la suplementación con glutamina, la cual aumenta la síntesis muscular proteica e induce una hipertrofia de los miotubos de la célula muscular esquelética en individuos de edad avanzada. Sin embargo, en este caso

no se produjeron cambios a nivel de mTOR. Sino que fueron realizados a nivel de 70S6K, otro importante regulador de la síntesis muscular proteica (33).

Es importante conocer que se cree que en personas de edad avanzada existe una menor respuesta a estímulos anabólicos a nivel muscular, de tal forma que se requieren niveles más altos de proteínas para mantener la síntesis muscular proteica (38). Sin embargo, existen estudios contradictorios al respecto. En los artículos 41 y 42 se concluye que el ratio fraccional de síntesis proteica a nivel muscular se mantiene a pesar de observarse una disminución significativa de la actividad de mTOR, 70S6K y 4E-BP1 (39).

5.2.3. Medidas no nutricionales

Sun *et al.* (27) evaluaron los efectos de la administración de pulsos de ultrasonidos de baja intensidad en ratones con atrofia muscular, observándose que mejoraba la proliferación mioblástica y regeneración muscular activando la vía mTOR y, por tanto, la síntesis muscular proteica al exponer al músculo atrofico a pulsos de ultrasonidos de $80\text{mW}/\text{cm}^2$, pudiendo ser considerado otro posible tratamiento de la sarcopenia en adultos mayores. Por otro lado, la administración de pulsos de ultrasonidos $30\text{mW}/\text{cm}^2$ aumenta la activación de Akt, molécula que promueve el anabolismo proteico e inhibe la proteólisis a nivel muscular (27).

Finalmente, se evaluó el efecto de otras terapias como el entrenamiento de fuerza o la estimulación neuromuscular no han demostrado beneficio alguno en personas con atrofia muscular o actúan en dianas distintas a mTOR.

Recopilando toda la información analizada, tras realizar la búsqueda bibliográfica se ha observado que hay varias medias terapéuticas que pueden ser efectivas a la hora de tratar la sarcopenia que aparece durante el envejecimiento actuando sobre mTOR. A nivel nutricional, se ha evaluado con resultados satisfactorios la administración de suplementos de aminoácidos fundamentalmente, además de otros como magnesio, rapamicina, n3-PUFA, HMB o testosterona. Por otro lado, se han estudiado los efectos de otras medidas como los pulsos de ultrasonidos de baja intensidad, que también tienen efecto sobre mTOR, mejorando la atrofia muscular; con la desventaja de que este método puede ser más complejo de llevar a la práctica por las dificultades que

presentan los pacientes afectos de sarcopenia para desplazarse hasta el centro de tratamiento.

5.3.LIMITACIONES Y FORTALEZAS

Esta revisión bibliográfica tiene una serie de limitaciones. En primer lugar, metodológicamente se han excluido artículos que podrían contener información relevante a cerca de la relación entre mTOR y sarcopenia, explorando otras vías como la expresión génica. Además, Se observan resultados contradictorios en algunos estudios, lo que puede ocasionar problemas a la hora de comprender y analizar la información.

Sin embargo, esta revisión también presenta ciertas fortalezas. En primer lugar, se ha observado que la relación entre mTOR y el desarrollo de sarcopenia ha sido objeto de estudio a lo largo de los últimos años, pudiendo disponer de un gran volumen de literatura para realizar la discusión. Por otro lado, el hecho de haber limitado la búsqueda bibliográfica ha permitido que la información objeto de estudio se haya podido analizar más profundamente, obteniendo conclusiones más concretas. Por último, esta revisión se enmarca dentro de los Objetivos del Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 (<https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/>), en concreto del ODS 3, cuyo objetivo es promover un estilo de vida saludable y el bienestar para todo el mundo.

6. CONCLUSIONES

1. Existe relación entre la reducción de la actividad de la vía mTOR y la producción de sarcopenia en individuos en edad avanzada.
2. mTOR es una importante diana sobre la que actuar para paliar los síntomas asociados a la atrofia muscular.
3. Se ha mostrado efectivo en modelos animales con atrofia muscular el tratamiento con análogos de la rapamicina, triptófano y pulsos de ultrasonidos de baja intensidad.
4. La administración de magnesio y HMB han revelado resultados favorables en modelos celulares actuando a nivel de mTOR.

5. En humanos la suplementación aminoacídica fundamentalmente, así como la administración de testosterona exógena y n3-PUFA pueden considerarse posibles tratamientos de la sarcopenia.
6. Existen discrepancias entre estudios publicados, por lo que es necesario seguir investigando sobre el papel de mTOR en el envejecimiento muscular

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Staron RS, Leonardi MJ, Karapondo DL, Malicky ES, Falkel JE, Hagerman FC, et al. Strength and skeletal muscle adaptations in heavy-resistance-trained women after detraining and retraining. *J Appl Physiol.* 1991 Feb 1;70(2):631–40.
2. Cruz-Jentoft AJ, Bahat G, Bauer J, Boirie Y, Bruyere O, Cederholm T, et al. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. 2019 Jan 1;48(1):16–31. Available from: <https://www.narcis.nl/publication/RecordID/oai:cris.maastrichtuniversity.nl:publications%2F7d8b01d7-8f98-42a4-910c-af17f5cdd284>
3. Lexell J. Human aging, muscle mass, and fiber type composition. *J. Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995 Nov 1;11–6.
4. Cleasby ME, Jamieson PM, Atherton PJ. Insulin resistance and sarcopenia: mechanistic links between common co-morbidities. *J Endocrinol.* 2016 May 1;229(2):R67-81.
5. Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, Blaauw B, Sandri M. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J.* 2013 Sep 1;280(17):4294–314.
6. Narici MV, Maffulli N. Sarcopenia: characteristics, mechanisms and functional significance. *Br Med Bull.* 2010;95:139–59.
7. Montero-Fernandez N, Serra-Rexach JA. Role of exercise on sarcopenia in the elderly. *Eur J Phys Rehabil Med.* 2013 Feb 1;49(1):131–43.
8. Abou Sawan S, van Vliet S, Parel JT, Beals JW, Mazzulla M, West DWD, et al. Translocation and protein complex co-localization of mTOR is associated with postprandial myofibrillar protein synthesis at rest and after endurance exercise. *Physiol Rep* 2018 Mar 1;6(5):e13628.
9. Shafiee G, Keshtkar A, Soltani A, Ahadi Z, Larijani B, Heshmat R. Prevalence of sarcopenia in the world: a systematic review and meta- analysis of general population studies. 2017 May 16;16:21-017-0302-x. eCollection 2017.

10. von Haehling S, Morley JE, Anker SD. An overview of sarcopenia: facts and numbers on prevalence and clinical impact. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2010 Dec;1(2):129–33
11. Short KR, Vittone JL, Bigelow ML, Proctor DN, Nair KS. Age and aerobic exercise training effects on whole body and muscle protein metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004 Jan 1;286(1):92–101.
12. Janssen I, Shepard DS, Katzmarzyk PT, Roubenoff R. The healthcare costs of sarcopenia in the United States. *J Am Geriatr Soc*. 2004 Jan 1;52(1):80–5.
13. Picca A, Coelho-Junior HJ, Calvani R, Marzetti E, Vetrano DL. Biomarkers shared by frailty and sarcopenia in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2022 Jan 1;73:101530.
14. Michela B. Liquid Biopsy: A Family of Possible Diagnostic Tools. *Diagnostics*. 2021 Jul 31;11(8):1391
15. Tan KT, Ang S-TJ, Tsai S-Y. Sarcopenia: Tilting the Balance of Protein Homeostasis. *Proteomics*. 2020 Mar 1;20(5–6):e1800411.
16. Nojima H, Tokunaga C, Eguchi S, Oshiro N, Hidayat S, Yoshino K, et al. The mammalian target of rapamycin (mTOR) partner, raptor, binds the mTOR substrates p70 S6 kinase and 4E-BP1 through their TOR signaling (TOS) motif. *J Biol Chem*. 2003 May 2;278(18):15461–4.
17. Yang Q, Guan K-L. Expanding mTOR signaling. *Cell Res*. 2007 Aug 1;17(8):666–81.
18. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell*. 2017 Apr 6;169(2):361–71.
19. Sarbassov DD, Ali SM, Kim D-H, Guertin DA, Latek RR, Erdjument-Bromage H, et al. Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. *Curr Biol*. 2004 Jul 27;14(14):1296–302.
20. Cybulski N, Hall MN. TOR complex 2: a signaling pathway of its own. *Trends Biochem Sci*. 2009 Dec 1;34(12):620–7.
21. Guertin DA, Stevens DM, Thoreen CC, Burds AA, Kalaany NY, Moffat J, et al. Ablation in Mice of the mTORC Components raptor, rictor, or mLST8 Reveals that mTORC2 Is Required for Signaling to Akt-FOXO and PKC α , but Not S6K1. *Dev Cell*. 2006 Dec 1;11(6):859–71.

22. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*. 2009 Jul 16;460(7253):392–5.
23. Yip CK, Murata K, Walz T, Sabatini DM, Kang SA. Structure of the Human mTOR Complex I and Its Implications for Rapamycin Inhibition. *Mol Cell*. 2010 Jun 11;38(5):768–74.
24. Risson V, Mazelin L, Roceri M, Sanchez H, Moncollin V, Corneloup C, et al. Muscle inactivation of mTOR causes metabolic and dystrophin defects leading to severe myopathy. *J Cell Biol*. 2009 Dec 14;187(6):859–74.
25. Pereira MG, Silva MT, da Cunha FM, Moriscot AS, Aoki MS, Miyabara EH. Leucine supplementation improves regeneration of skeletal muscles from old rats. *Exp Gerontol*. 2015 Dec;72:269–77.
26. Le Bacquer O, Combe K, Patrac V, Ingram B, Combaret L, Dardevet D, et al. 4E-BP1 and 4E-BP2 double knockout mice are protected from aging-associated sarcopenia. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*. 2019 Jun; 10(3): 696-709
27. Sun L, An S, Zhang Z, Zhou Y, Yu Y, Ma Z, et al. Molecular and Metabolic Mechanism of Low-Intensity Pulsed Ultrasound Improving Muscle Atrophy in Hindlimb Unloading Rats. *Int J Mol Sci*. 2021 Nov 9;22(22):12112.
28. Shavlakadze T, Zhu J, Wang S, Zhou W, Morin B, Egerman MA, et al. Short-term Low-Dose mTORC1 Inhibition in Aged Rats Counter-Regulates Age-Related Gene Changes and Blocks Age-Related Kidney Pathology. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2018 Jun 14;73(7):845–52.
29. Marabita M, Baraldo M, Solagna F, Ceelen JJM, Sartori R, Nolte H, et al. S6K1 Is Required for Increasing Skeletal Muscle Force during Hypertrophy. *Cell Rep*. 2016 Oct 4;17(2):501–13.
30. Tsai S, Sitzmann JM, Dastidar SG, Rodriguez AA, Vu SL, McDonald CE, et al. Muscle-specific 4E-BP1 signaling activation improves metabolic parameters during aging and obesity. *J Clin Invest*. 2015 Aug 1;125(8):2952–64.
31. Sung B, Hwang SY, Kim MJ, Kim M, Jeong JW, Kim CM, et al. Loquat leaf extract enhances myogenic differentiation, improves muscle function and attenuates muscle loss in aged rats. *Int J Mol Med*. 2015 Sep 1;36(3):792–800.
32. B.S D Amy, Ph.D D Colleen, Ph.D ER Mona, Ph.D U Sunil, B.S M Sarah, B.S A Phonepasong, et al. The aromatic amino acid tryptophan stimulates skeletal muscle IGF1/p70s6k/mTor signaling in vivo and the expression of myogenic genes in vitro. *Nutrition*. 2015 Jul 1;31(7):1018–24.

33. Chaillou T, Sanna I, Kadi F. Glutamine-stimulated in vitro hypertrophy is preserved in muscle cells from older women. *Mech Ageing Dev.* 2020 Apr 1;187:111228.
34. Brown AD, Close GL, Sharples AP, Stewart CE. Murine myoblast migration: influence of replicative ageing and nutrition. *Biogerontology.* 2017 Dec 1;18(6):947–64.
35. Kimura K, Cheng XW, Inoue A, Hu L, Koike T, Kuzuya M. β -Hydroxy- β -methylbutyrate facilitates PI3K/Akt-dependent mammalian target of rapamycin and FoxO1/3a phosphorylations and alleviates tumor necrosis factor α /interferon γ -induced MuRF-1 expression in C2C12 cells. *Nutrition.* 2014 Apr 1;34(4):368–74.
36. Liu Y, Wang Q, Zhang Z, Fu R, Zhou T, Long C, et al. Magnesium supplementation enhances mTOR signalling to facilitate myogenic differentiation and improve aged muscle performance. *Bone.* 2021 May;146:115886.
37. Sani M, Barberi L, Bijlsma AY, Blaauw B, Dyar KA, Milan G, et al. Signalling pathways regulating muscle mass in ageing skeletal muscle: the role of the IGF1-Akt-mTOR-FoxO pathway. *Biogerontology.* 2013 Jun 1;14(3):303–23.
38. Brook MS, Scaife P, Bass JJ, Cegielski J, Watanabe S, Wilkinson DJ, et al. A collagen hydrolysate/milk protein-blend stimulates muscle anabolism equivalently to an isoenergetic milk protein-blend containing a greater quantity of essential amino acids in older men. *Clin Nutr.* 2021 Jan 13;40(6):4456–64.
39. Gharahdaghi N, Rudrappa S, Brook MS, Idris I, Crossland H, Hamrock C, et al. Testosterone therapy induces molecular programming augmenting physiological adaptations to resistance exercise in older men. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* 2019 Dec;10(6):1276–94.
40. Cuthbertson DJ, Babraj J, Leese G, Siervo M. Anabolic resistance does not explain sarcopenia in patients with type 2 diabetes mellitus, compared with healthy controls, despite reduced mTOR pathway activity. *Clin Nutr.* 2016 Nov 25;36(6):1716–9.
41. Mitchell WK, Phillips BE, Hill I, Greenhaff P, Lund JN, Williams JP, et al. Human skeletal muscle is refractory to the anabolic effects of leucine during the postprandial muscle-full period in older men. *Clin Sci (Lond).* 2017 Oct 27;131(21):2643-2653.
42. Evans M, Guthrie N, Pezzullo J, Sanli T, Fielding RA, Bellamine A. Efficacy of a novel formulation of L-Carnitine, creatine, and leucine on lean body mass and functional muscle strength in healthy older adults: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *Nutr Metab.* 2017 Jan 18;14(1):7.

43. Yoshino J, Smith GI, Kelly SC, Julliard S, Reeds DN, Mittendorfer B. Effect of dietary n-3 PUFA supplementation on the muscle transcriptome in older adults. *Physiol Rep*. 2016 Jun;4(11):e12785-n/a.
44. Dirks ML, Wall BT, Kramer IF, Zorenc AH, Goessens JPB, Gijzen A, et al. A single session of neuromuscular electrical stimulation does not augment postprandial muscle protein accretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2016 Jul 1;311(1):E278–85.
45. Hentilä J, Hulmi J, Laakkonen E, Ahtiainen J, Suominen H, Korhonen M. Sprint and Strength Training Modulates Autophagy and Proteostasis in Aging Sprinters. *Med Sci Sports Exerc*. 2020 Sep;52(9):1948–59.
46. Moro T, Brightwell CR, Deer RR, Graber TG, Galvan E, Fry CS, et al. Muscle Protein Anabolic Resistance to Essential Amino Acids Does Not Occur in Healthy Older Adults Before or After Resistance Exercise Training. *J Nutr*. 2018 Jun 1;148(6):900–9.
47. Wåhlin-Larsson B, Wilkinson DJ, Strandberg E, Hosford-Donovan A, Atherton PJ, Kadi F. Mechanistic Links Underlying the Impact of C-Reactive Protein on Muscle Mass in Elderly. *Cell Physiol Biochem*. 2017 Jan 1;44(1):267–78.
48. Cho H, Mu J, Kim JK, Thorvaldsen JL, Chu Q, Crenshaw EB 3rd, et al. Insulin resistance and a diabetes mellitus-like syndrome in mice lacking the protein kinase Akt2 (PKB beta). *Science*. 2001 Jun 1;292(5522):1728–31.
49. Le Bacquer O, Petroulakis E, Pagliaroli L, Poulin F, Richard D, Cianflone K, et al. Elevated sensitivity to diet-induced obesity and insulin resistance in mice lacking 4E-BP1 and 4E-BP2. *J Clin Invest*. 2007 Feb 1;117(2):387–96.
50. Hosford-Donovan A, Nilsson A, Wåhlin-Larsson B, Kadi F. Observational and mechanistic links between C-reactive protein and blood pressure in elderly women. *Maturitas*. 2016 Jul 1;89:52–7.
51. Hofmann JW, Zhao X, De Cecco M, Peterson AL, Pagliaroli L, Manivannan J, et al. Reduced expression of MYC increases longevity and enhances healthspan. *Cell*. 2015 Jan 29;160(3):477–88.
52. Zhang P, Liang X, Shan T, Jiang Q, Deng C, Zheng R, et al. mTOR is necessary for proper satellite cell activity and skeletal muscle regeneration. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015 Jul 17;463(1–2):102–8.

53. Sharp ZD, Bartke A. Evidence for down-regulation of phosphoinositide 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin (PI3K/Akt/mTOR)-dependent translation regulatory signaling pathways in Ames dwarf mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005 Mar 1;60(3):293–300.
54. Bois PRJ, Grosveld GC. FKHR (FOXO1a) is required for myotube fusion of primary mouse myoblasts. *EMBO J*. 2003 Mar 3;22(5):1147–57.
55. Rubin H. Central roles of Mg²⁺ and MgATP²⁻ in the regulation of protein synthesis and cell proliferation: significance for neoplastic transformation. *Adv Cancer Res*. 2005;93:1–58.
56. Welch AA, Skinner J, Hickson M. Dietary Magnesium May Be Protective for Aging of Bone and Skeletal Muscle in Middle and Younger Older Age Men and Women: Cross-Sectional Findings from the UK Biobank Cohort. *Nutrients*. 2017 Oct 30;9(11):1189.
57. Kadi F, Eriksson A, Holmner S, Thornell LE. Effects of anabolic steroids on the muscle cells of strength-trained athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 1999 Nov 1;31(11):1528–34.
58. Roberts MD, Haun CT, Mobley CB, Mumford PW, Romero MA, Roberson PA, et al. Physiological Differences Between Low Versus High Skeletal Muscle Hypertrophic Responders to Resistance Exercise Training: Current Perspectives and Future Research Directions. *Front Physiol*. 2018 Jul 4;9:834.
59. White JP, Gao S, Puppa MJ, Sato S, Welle SL, Carson JA. Testosterone regulation of Akt/mTORC1/FoxO3a signaling in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol*. 2013 Jan 30;365(2):174–86.
60. Cunningham JT, Rodgers JT, Arlow DH, Vazquez F, Mootha VK, Puigserver P. mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1-PGC-1 α transcriptional complex. *Nature*. 2007 Nov 29;450(7170):736–40.
61. Brook MS, Wilkinson DJ, Atherton PJ. Nutrient modulation in the management of disease-induced muscle wasting: evidence from human studies. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017 Nov 1;20(6):433–9.
62. Atherton PJ, Etheridge T, Watt PW, Wilkinson D, Selby A, Rankin D, et al. Muscle full effect after oral protein: time-dependent concordance and discordance between human muscle protein synthesis and mTORC1 signaling. *Am J Clin Nutr*. 2010 Nov 1;92(5):1080–8.

63. Kitakaze T, Sakamoto T, Kitano T, Inoue N, Sugihara F, Harada N, et al. The collagen derived dipeptide hydroxyprolyl-glycine promotes C2C12 myoblast differentiation and myotube hypertrophy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016 Sep 23;478(3):1292–7.
64. Eley HL, Russell ST, Tisdale MJ. Effect of branched-chain amino acids on muscle atrophy in cancer cachexia. *Biochem J*. 2007 Oct 1;407(1):113–20.