



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO
TÍTULO: ENVEJECIMIENTO Y LA VÍA DE
SEÑALIZACIÓN MTORC1**

Autor: Andrea Morales Vázquez

Fecha: Junio 2020

Tutor: Carlos Guillén Viejo

1. Resumen

El envejecimiento se define como el deterioro progresivo de procesos fisiológicos, anatómicos y biológicos. Aunque su etiología es bastante compleja, sí se puede afirmar que constituye un factor de riesgo importante para diversas enfermedades como el cáncer, la neurodegeneración, el síndrome metabólico o las alteraciones vasculares.

La vía de señalización mTOR, debido a la función reguladora que presenta el complejo 1 en concreto sobre diversos procesos biológicos, constituye una pieza clave a la hora de comprender los mecanismos por los cuales se desarrollan algunas de estas patologías asociadas al proceso de envejecimiento. Es por este motivo que su desarrollo y conocimiento es esencial, no solo para profundizar en esta materia, sino también para el abordaje de nuevas perspectivas terapéuticas aplicables en humanos.

2. Objetivo

El objetivo de este trabajo es ofrecer una visión general sobre la vía de señalización mTOR y la implicación de uno de sus complejos, mTORC1, en el envejecimiento. De forma específica se pretende describir la estructura y las diferentes rutas que comprenden la vía de señalización de mTORC1. Además, se desarrolla el concepto de envejecimiento, así como los mecanismos y las diferentes patologías asociadas al mismo. También se aborda la clínica conocida hasta ahora, independientemente de los resultados y aplicación en animales o humanos.

3. Material y métodos

Para la realización de este trabajo, se ha llevado a cabo una búsqueda y revisión bibliográfica de diversos artículos científicos y publicaciones presentes en revistas recogidas en las bases de datos: PubMed, Google académico y MedlinePlus. La búsqueda se limitó a la última década y las palabras clave usadas han sido: *mTORC1*, *life span*, *rapamycin*, *autophagy*, *aging diseases*...entre otras.

4. Conceptos básicos

4.1. Introducción

4.1.1. Estructura de mTOR

La conocida como diana de rapamicina de mamíferos o mTOR es una proteína serina/treonina quinasa perteneciente a la subfamilia de las denominadas quinasas relacionadas con la fosfatidilinositol-3-quinasa (PIKK)¹. Es codificada por un solo gen y constituye la subunidad catalítica de dos importantes complejos multiproteicos² que difieren entre sí no solo funcional y estructuralmente, sino también en su sensibilidad a la rapamicina³:

- **mTORC 1**, constituido por 5 componentes además de la proteína mTOR:
 - **Raptor** (proteína reguladora asociada a mTOR). Se une a los denominados TOS o motivos de señalización TOR encontrados en varios de los sustratos de mTORC1, facilitando así el reclutamiento de los mismos. También permite la correcta localización intracelular del complejo⁴.

- mLST8 (proteína letal en mamíferos). Se asocia con el dominio catalítico de mTORC1, estabilizando y potenciando la actividad de la quinasa⁴. Varios estudios apuntan a la importancia de este componente para el correcto funcionamiento de mTORC1 pues además de permitir la unión de p70S6K y 4E-BP1, también controla la señalización de insulina mediante el factor de transcripción FoxO3.
 - PRAS40 (sustrato de Akt rico en prolina). Actúa como subunidad inhibidora. Previene la asociación de ambas, la quinasa ribosomal p70S6K y la proteína de unión al factor iniciador 4E en eucariotas (4E-BP1), a la proteína Raptor. Para la activación de mTORC1, es necesaria la fosforilación de PRAS40 por la Akt y su correspondiente separación y retención en el citoplasma celular.
 - DEPTOR (proteína de interacción con mTOR, con dominio DEP). También actúa como subunidad inhibidora al unirse al dominio FAT de mTOR.
- **mTORC2**. Desde el punto de vista estructural, lo que la diferencia de mTORC1 es la presencia de Rictor (acompañante de mTOR insensible a rapamicina), una proteína que probablemente tenga una función análoga a Raptor, y mSIN1 (proteína de mamíferos activada por estrés y de interacción con MAP quinasa), que actúa como subunidad reguladora. También presenta una proteína acompañante de Rictor (Protor)⁴.

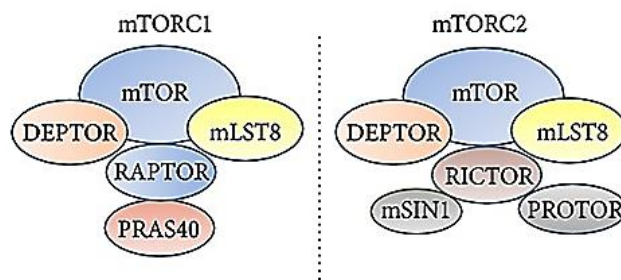


Ilustración 1.-Estructura de los complejos 1 y 2 de mTOR⁵.

Como ya hemos mencionado, una de las principales diferencias entre ambos complejos es su diferente sensibilidad al compuesto que les da nombre, la rapamicina. Mientras que mTORC1 se ve inhibido por dicha sustancia, mTORC2 es a priori insensible¹. Sin embargo, sí se ha observado que una exposición prolongada de mTORC2 a rapamicina sí que produce un efecto inhibitorio sobre este complejo en determinadas líneas celulares y tejidos in vivo³.

4.1.2. Vía de señalización: upstream.

- mTORC1:

La activación de mTORC1 tiene lugar en determinados orgánulos celulares como son los peroxisomas y lisosomas, en estos últimos a nivel de membrana⁶. Es un complejo mecanismo que implica la participación de diferentes señales y la presencia de las correspondientes proteínas y fuentes de energía⁴.

- Determinados factores de crecimiento como la insulina o los IGFs desencadenan la fosforilación dependiente de Akt (una proteína quinasa B que actúa como efector) de uno de los tres componentes (TSC2) que constituyen el

TSC (del inglés, Tuberous Sclerosis Complex), un complejo hetero-trimérico formado por TSC1, TSC2 y TBC1D7⁴ que actúa como una proteína activadora (GAP) de la GTPasa homóloga a RAS en cerebro (Rheb)³. La fosforilación provoca la disociación del complejo TSC de la membrana lisosomal⁴, impidiendo la actividad GAP del TSC2 sobre la GTPasa Rheb. El mantenimiento del estado GTP de Rheb, es lo que desencadena la activación de mTORC1⁷.

La fosforilación del TSC2 también puede estar mediada por la vía MAPK/ERK y su efector p90RSK, así como ciertas citoquinas proinflamatorias como el TNF α también pueden ejercer un efecto activador similar sobre mTORC1⁴. El mecanismo de estas es conceptualmente similar al llevado a cabo por los factores de crecimiento: la quinasa IKK β fosforila al TSC1, causando la inhibición del complejo⁸.

Por último, la ruta Wnt (reguladora del crecimiento, proliferación, diferenciación y desarrollo celular) también activa a MTORC1 mediante la inhibición de la quinasa GSK3 β , la cual normalmente fosforila y promueve la actividad del TSC2⁸.

- Nutrientes como los amino ácidos siguen dos vías diferentes dependiendo de su localización. Aquellos que se encuentran a nivel lisosomal, son capaces de activar el complejo mTORC1 mediante una vía de señalización Rag dependiente (otro grupo de GTPasas relacionadas con Ras que actúan como heterodímeros activadores y que están constituidas por RagA o RagB en combinación con RagC o RagD). La activación de dichas Rag fijadas a las membranas lisosomales vía LAMTOR, es lo que permite su posterior unión al Raptor y la activación de mTORC1⁴.

Otros aminoácidos localizados en el citoplasma como la leucina o la arginina, siguen la vía de señalización mediada por los complejos GATOR1 y 2. El primero presenta una actividad GAP para las proteínas RagA/B, lo que provoca un efecto inhibitorio sobre mTORC1. El segundo interacciona con el primero provocando su inhibición, es decir, actúa como regulador positivo de mTORC1. Este último está regulado (inhibido) por dos sensores como son CASTOR1 (arginina) Y SESTRIN2 (leucina)⁴ en presencia de amino ácidos.

Esto lleva a afirmar que mTORC1 está regulado por dos sistemas diferentes de pequeñas proteínas G, Rag y Rheb. La participación de ambas es necesaria para la activación del mTORC1⁶.

- Otro importante efector de este complejo de señalización es la AMP proteinquinasa o AMPK. Esta quinasa actúa como sensor alostérico del estado de energía celular⁶. Determinadas situaciones de estrés intracelular o ambiental como hipoxia o daño en el DNA, así como bajos niveles de glucosa, provocan un aumento de los niveles AMP y la activación de la AMPK. Esta presenta una actividad inhibitoria sobre mTORC1 mediada por una fosforilación y activación de la actividad GAP del TSC2 sobre Rheb. También puede modular de forma directa (inhibir) a mTORC1 mediante la fosforilación de la subunidad de Raptor⁴.

En situaciones de hipoxia, también se puede dar la inhibición de mTORC1 mediante la inducción de REDD1 y su posterior efecto activador sobre el complejo TSC⁷. Mientras que los daños en el DNA provocan la inducción de SESTRIN 1/2, lo que activa también a la AMPK⁸.

Cabe destacar, por tanto, la existencia de más de un mecanismo y no todos ellos implican la participación de la AMPK como único sensor alostérico.

- mTORC2:

A diferencia de la anterior, este presenta como principal efector la vía de señalización insulina/PI3K. Aquí cobra una gran importancia la subunidad mSIN1, que se caracteriza por presentar un dominio PH, y que es esencial a la hora de ejercer ese efecto auto inhibitorio sobre el complejo 2 en ausencia de insulina.

Dicha subunidad también puede ser fosforilada por Akt, apareciendo así un ciclo de retroalimentación positiva⁴.

De forma independiente, también se ha observado la existencia de un feedback negativo entre mTORC1 y la vía de señalización insulina/PI3K⁴.

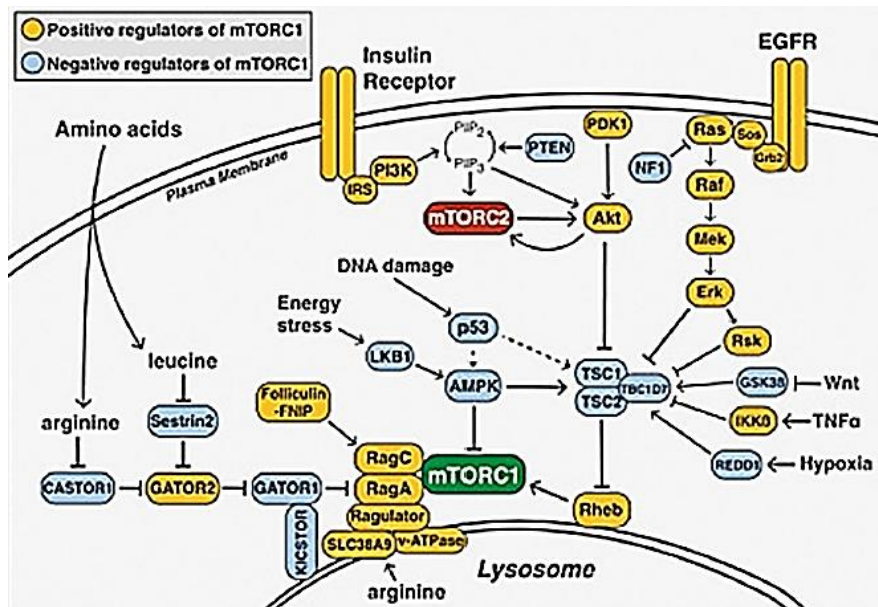


Ilustración 2.- Vía de señalización ascendente de mTORC1/2⁴.

4.1.3. Vía de señalización: downstream.

mTOR funciona como un complejo sensor de nutrientes, energía y actividad bioeléctrica en el organismo. Actualmente, sabemos que el papel de mTOR va mucho más allá de la proliferación, hiperplasia o crecimiento celular. Integra una serie de rutas metabólicas encargadas de regular y controlar muchos otros procesos biológicos como la síntesis proteica/lipídica/nucleótida, la biogénesis ribosomal, la autofagia, el envejecimiento, la senescencia celular y esperanza de vida⁴.

mTORC1:

- Síntesis proteica y biogénesis ribosomal.

mTORC1 estimula la síntesis de proteínas mediante la fosforilación y activación de la S6K1. Esta cataliza a su vez (entre otras moléculas) la fosforilación y activación de la proteína S6, un componente de la subunidad ribosomal 40S esencial para la iniciación del proceso de traducción del RNAm⁷.

Por otro lado, mTORC1 también fosforila e inactiva a la 4E-BP1 (proteína 1 de unión al factor de iniciación eucariótico 4E o, abreviado, eIF4E). En su estado no fosforilado, 4E-BP1 inhibe la traducción del RNAm al permanecer unida al eIF4E. La fosforilación desencadena la separación de ambos y, por lo tanto, la estimulación de la traducción¹. mTORC1 también regula la síntesis proteica mediante otros mecanismos: activa al elemento regulador TIF1A, lo que promueve su interacción con la RNA polimerasa 1 y la expresión del RNA ribosomal, pero también fosforila e inhibe a Maf1, un represor de la polimerasa 3⁸.

- Metabolismo.

- Lípidos. mTORC1, a través de la activación S6K1 dependiente de SREBP1/2 (factor de transcripción de la proteína de unión al elemento sensible al esteroil localizado en el retículo endoplasmático), o bien mediante la fosforilación del sustrato lipina 1 que en su estado no fosforilado produce la inhibición del SREBP, regula la síntesis lipídica *de novo* (a nivel nuclear) esencial para la formación y expansión de la membrana durante el proceso de crecimiento celular⁴.

mTORC1, por otro lado, también promueve la expresión y actividad del receptor PPAR localizado en los peroxisomas y que actúa como un regulador importante de la adipogénesis⁸.

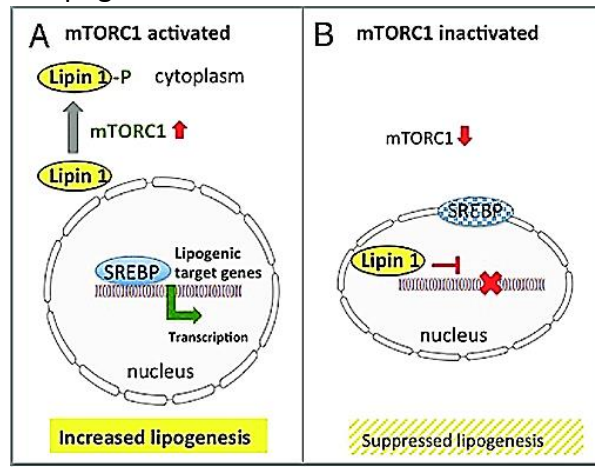


Ilustración 3.-Lipogénesis mediada por mTORC1-Lipina 1-SREBP⁹.

- Nucleótidos. El complejo 1 también promueve la síntesis de nucleótidos durante la replicación del DNA y la biogénesis ribosomal en células en crecimiento o proliferación mediante el incremento de la expresión del MTHFD2, un factor esencial en el ciclo mitocondrial, así como mediante la fosforilación de la S6 antes mencionada⁴.
- Glucosa. La activación de mTORC1 favorece la glucólisis frente a la fosforilación oxidativa gracias a la traducción del factor de transcripción HIF1 α , un regulador

positivo de diversos genes glucolíticos, que desencadena la expresión de varias enzimas como la fosfofructoquinasa (PFK)⁸.

- Recambio proteico.

La autofagia se define como un proceso catabólico ampliamente conservado en eucariotas, en el cual el citoplasma, incluyendo el exceso de orgánulos o aquellos alterados o aberrantes, son secuestrados en vesículas de doble membrana y liberados dentro del lisosoma o la vacuola para su descomposición y eventual reciclado de las macromoléculas resultantes¹⁰. Está estrechamente relacionada con la inhibición de rutas consumidoras de energía e implica la estimulación de los procesos catabólicos para la degradación celular de componentes como consecuencia de un déficit de nutrientes².

Uno de los puntos clave en el proceso autofágico es la activación de la quinasa ULK1, esencial para la formación del fagosoma. El complejo mTORC1 fosforila dicha quinasa impidiendo así su activación, pero también fosforila e impide la traslocación del factor de transcripción TFEB, esencial para la expresión de genes relacionados con este proceso e implicado también en la biogénesis lisosomal⁸.

El segundo mecanismo aún está en debate e implica la participación del sistema UPS o ubiquitín-proteosoma. Se cree que una inhibición de mTORC1 promueve la proteólisis con el objetivo de restaurar los niveles de aminoácidos, mientras que una activación prolongada también produce este incremento en la degradación proteica como mecanismo compensatorio ante la mayor síntesis de proteínas.

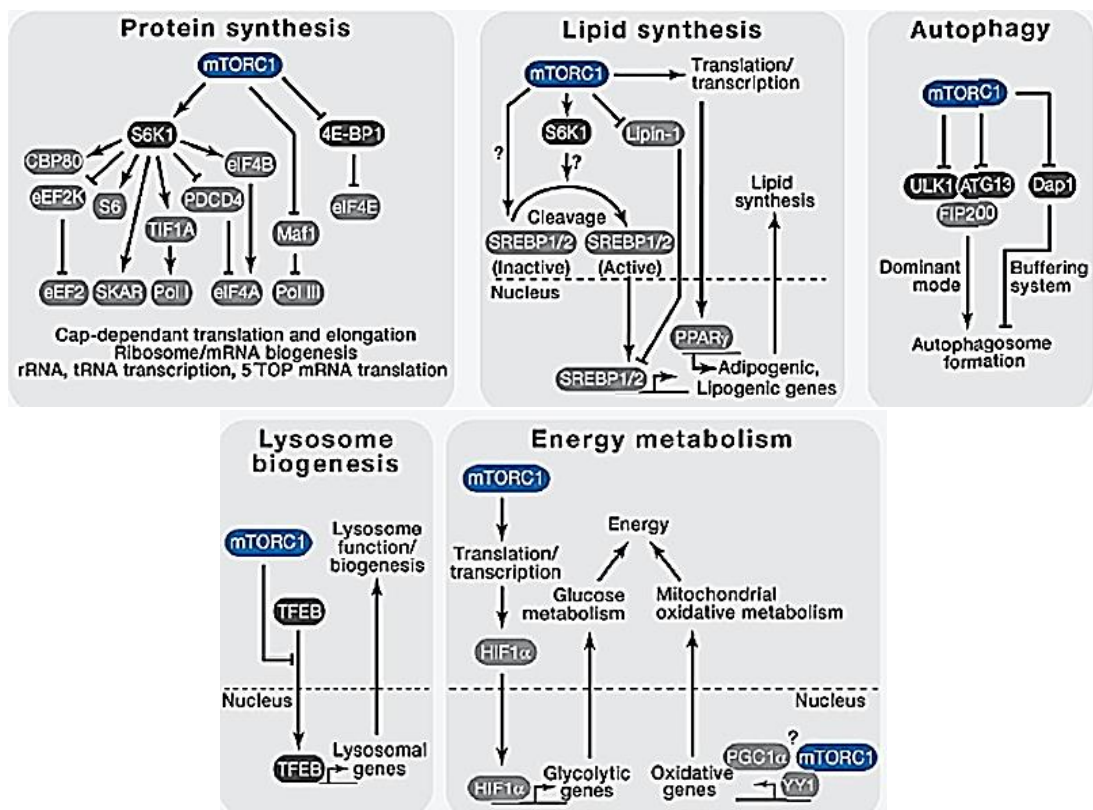


Ilustración 4.-Vías descendientes mediadas por mTORC1⁸.

mTORC2:

A diferencia de mTORC1, mTORC2 regula la actividad de diversos miembros de la familia de las quinasas AGC, como la AKT o la SGK1. Está implicada en el control del metabolismo lipídico y de glucosa mediante mecanismos AKT dependientes e independientes, así como controla el transporte de iones vía SGK1. También afecta al citoesqueleto y la migración celular mediante la proteína quinasa $C\alpha$ (PKC α). Además, tanto la AKT como la SGK regulan negativamente a FOXO1/3A, unos factores de transcripción relacionados con el metabolismo y la apoptosis³.

4.2. Rapamicina (sirolimus)

La actividad de la ruta mTOR se encuentra regulada por la rapamicina, fármaco antifúngico del grupo de los macrólidos (formado por un grupo lactónico y otro lactámico), aislado por primera vez en la década de los 70 de una bacteria del suelo denominada *Streptomyces hygroscopicus* y que no solo inhibe, sino que también le da nombre a la proteína. Inicialmente se estudió como antifúngico, pero actualmente se utiliza por su actividad antitumoral e inmunosupresora¹⁰. De hecho, fue aprobado por la FDA para la prevención del rechazo agudo de trasplante renal, administrándolo conjuntamente con ciclosporina y corticoides¹¹.

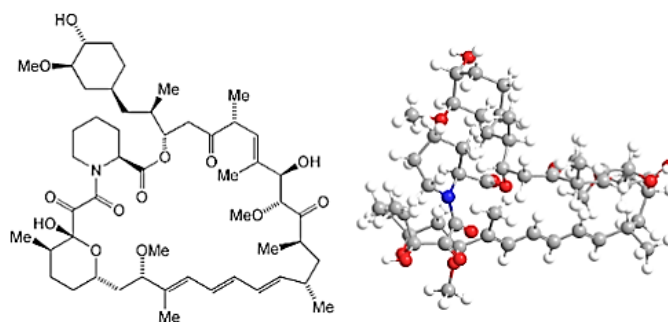


Ilustración 2.-Estructura química del sirolimus¹¹.

Su mecanismo de acción implica la unión a la proteína citosólica específica FKBP-12, englobada a su vez dentro del grupo de las denominadas inmunofilinas. La formación del complejo FKBP-12-rapamicina desencadena la inhibición de la vía dependiente del calcio mediante dos mecanismos: uno de acción directa y otro mediante la inhibición de las dos enzimas específicas de rapamicina, las TOR1/2. También inhibe la fosforilación de las quinasas p70 y 34 (inducidas por IL-2) y que son cruciales para la regulación del ciclo celular¹⁰.

No fue hasta el descubrimiento de la ruta mTOR cuando se empezó a considerar a la rapamicina como un importante regulador de la esperanza de vida y el envejecimiento¹². En ese momento era la única sustancia farmacológica conocida que producía estos efectos en todos los organismos modelo estudiados, así como en mamíferos³. En la actualidad, se han conseguido desarrollar moléculas análogas (de las cuales se hablará posteriormente) que tienen una aplicación similar. Por otro lado, otros fármacos como el resveratrol o la metformina también se están barajando como posibles prolongadores de la esperanza de vida.

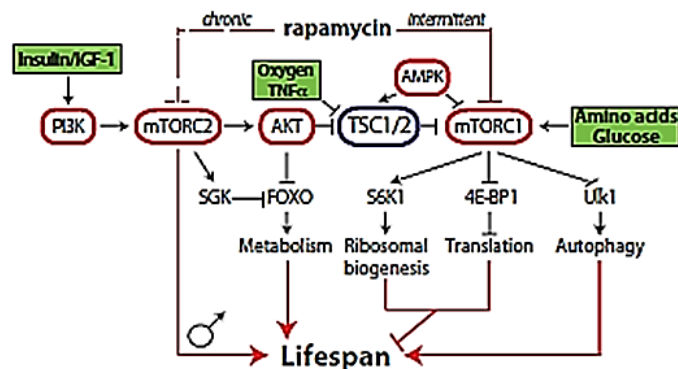


Ilustración 3.-Mecanismo de acción de la rapamicina¹².

5. Resultados y discusión

5.1. Antecedentes

La vía de señalización de mTOR se ha demostrado que está fuertemente implicada en el proceso de envejecimiento de diversos organismos incluidos gusanos, moscas y mamíferos. Los primeros indicios surgieron con estudios realizados sobre gusanos nemátodos de la especie *C. elegans*, donde se observó que una menor expresión del complejo homólogo a mTOR en esta especie (ceTOR) y Raptor, aumentaba la esperanza de vida. Siguiendo la misma línea, otros estudios demostraron que una disminución de la señalización mTOR promovía la longevidad en moscas de la especie *Drosophila melanogaster*⁴. Posteriormente, se asoció mTOR con el control de la esperanza de vida en cepas de levaduras de la especie *S. cerevisiae*. En estos organismos, la simple inhibición de mTOR con rapamicina duplicaba la longevidad celular, definida como tiempo de supervivencia de las células no divisibles. Finalmente, el interés de mTOR como regulador del envejecimiento se vio reforzada con el descubrimiento de que la rapamicina ejercía este efecto en especies de ratones genéticamente heterogéneos. El tratamiento primeramente se inició a edades equivalentes a los 60 años humanos para luego posteriormente realizarlo sobre edades más tempranas sin observar un efecto substancial y teniendo en consideración que los resultados obtenidos eran sexo y dosis dependientes¹³. Dichos resultados tampoco estaban asociados a cambios en los patrones de enfermedad o a las causas de muerte.

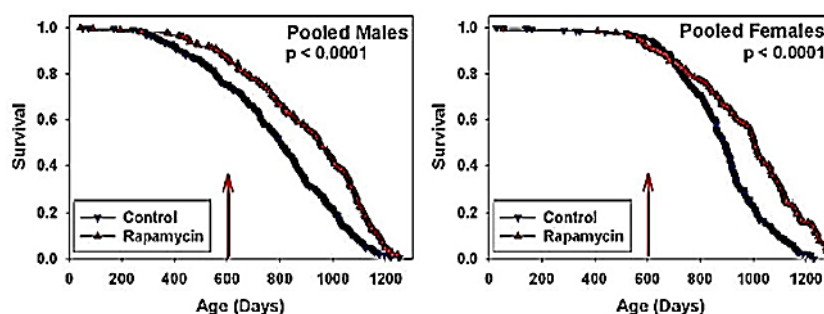


Ilustración 4.-Supervivencia de ratones machos (izq.) y hembras (dcha.), comparando controles con aquellos sometidos a rapamicina durante 600 días¹⁴, (los resultados de los otros estudios se pueden observar en [15], [16] y [17]).

5.2. Concepto de envejecimiento

El proceso de envejecimiento se caracteriza por una pérdida gradual de la integridad fisiológica en la mayoría de tejidos y organismos, lo que provoca una alteración de las funciones y un incremento de la vulnerabilidad¹³. La aceleración de este proceso en determinados tejidos conlleva una serie de desórdenes entre los que se incluyen la neurodegeneración, la obesidad, la diabetes y las enfermedades cardiovasculares³. Algunos de los sellos distintivos de este proceso están regulados por mTOR, especialmente el complejo 1¹³, y su conocimiento puede ayudar a retrasar al máximo el desarrollo de estas patologías y en última estancia, a expandir la esperanza de vida⁸.

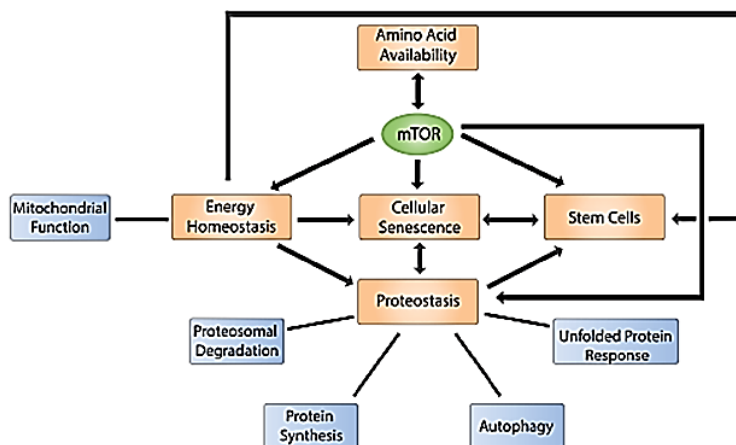


Ilustración 5.-Puntos clave del envejecimiento regulados por mTOR³.

5.3. Procesos implicados

Aunque actualmente está ampliamente aceptado que la inhibición de mTOR incrementa la esperanza de vida, los mecanismos aún no están claros. Puede que estos no impliquen un retraso del envejecimiento en sí mismo, sino más bien un retraso de las enfermedades asociadas a este¹³.

5.3.1. Traducción del mRNA

Algunas líneas de investigación sugieren que la disminución de la traducción del RNAm como consecuencia de la inhibición de mTORC1 entelentece el envejecimiento, ya que desencadena una reducción de la acumulación de estrés oxidativo y proteotóxico⁴. La cronicidad de ambos procesos está estrechamente relacionada con varias enfermedades como el Alzheimer o el Parkinson³.

5.3.2. Proteostasis

La proteostasis engloba la síntesis, la autofagia o degradación proteica, el plegamiento o tráfico de proteínas, así como todos los mecanismos de control de estos procesos. Dichos eventos están regulados por la vía mTOR y las alteraciones que se produzcan en ellos, de nuevo, se asocian al desarrollo de enfermedades relacionadas con el envejecimiento³.

5.3.3. Función mitocondrial

Las funciones mitocondriales anómalas son una de las características principales de las células envejecidas. Estas anomalías se caracterizan por una producción elevada de ROS, mutaciones en el DNA mitocondrial, disminución del transporte de electrones, alteraciones en el potencial de membrana y en la producción de ATP, alteración de la mitofagia (degradación selectiva autofágica como mecanismo de control que asegura el reciclaje y eliminación de mitocondrias dañadas)...Funcionalmente, esto se traduce en la inducción de la senescencia celular, la inflamación crónica y la reducción de la actividad de las células madre.

Como ya hemos mencionado, mTORC1 regula la biogénesis mitocondrial y su actividad estimula, entre otras, la respiración mitocondrial y la producción de ATP. Estos se consideran, por ejemplo, requisitos indispensables para las altas demandas energéticas de células tumorales³.

5.3.4. Autofagia

Continuando con los conceptos mencionados en el apartado anterior, el proceso autofágico que contribuye a la eliminación de componentes citosólicos, es esencial a la hora de proporcionar sustratos para la producción de energía en situaciones catabólicas con limitada disponibilidad de nutrientes. También elimina orgánulos dañados como la mitocondria, cuya acumulación está relacionada no solo al proceso en sí de envejecimiento sino también a enfermedades asociadas al mismo⁴.

La inhibición de mTORC1 y, por ende, la estimulación de la autofagia, contribuye a la eliminación de las mitocondrias viejas y disfuncionales (mitofagia) pero también, regula sus funciones. Por un lado, controla el metabolismo celular fomentando la glucólisis frente a la fosforilación oxidativa. Por otro lado, estimula la biogénesis mitocondrial en determinadas células.

Cabe destacar que, aunque es importante mantener el número y las funciones mitocondriales durante el envejecimiento, el proceso mediado por mTORC1 es complejo y puede variar dependiendo del tejido¹³.

5.3.5. Células madre

Otro modelo sugiere que la atenuación del número y de las funciones de las células madre adultas en algunos tejidos juega un papel importante en el proceso de envejecimiento⁴.

Los tejidos adultos contienen células madre somáticas que les permiten regenerarse bajo condiciones fisiológicas normales como en respuesta a daños en el tejido. Además, las células madre también tienen la capacidad de diferenciarse en varios tipos celulares, así como la de acumularse en nichos concretos dentro del tejido. Esto no quiere decir que no puedan acumular mutaciones o sufrir cambios epigenéticos que comprometan su funcionalidad o su habilidad para dividirse. Para evitar esto, las células madre adultas se mantienen en un estado de quiescencia hasta su activación. Ese estado implica una reducción del metabolismo, la transcripción y la traducción, lo que se correlaciona con una inhibición de mTORC1. Dependiendo del tejido, estas células se acumulan con la edad y lo que es más importante, sufren cambios en su funcionalidad debido a factores tanto intrínsecos como extrínsecos.

En este aspecto, el papel de mTORC1 está mejor establecido. Diferentes estudios sugieren que una actividad incrementada puede ser tanto beneficiosa como perjudicial para las células madre dependiendo del contexto. Por ejemplo, se ha observado que la activación de mTOR

revitaliza las células madre neuronales del hipocampo mediante un incremento de la proliferación y neurogénesis. Sin embargo, en aquellas en las cuales la reparación del DNA dañado está comprometida (acelerando el proceso de envejecimiento), la hiperactivación de mTOR contribuye a la disfuncionalidad³.

5.3.6. Sistema inmunitario

El correcto estado del sistema inmunitario es esencial para mantener al organismo protegido frente a patógenos, cánceres y otras enfermedades. Cabe destacar, que la inhibición de mTORC1 es utilizada en inmunoterapia para limitar la activación de células T y prevenir el rechazo a órganos trasplantados¹³. En contraste, esa misma inhibición potencia la diferenciación y expansión de las células T reguladoras de CD4+ y las células T de memoria CD8+⁴. Esta última, crítica para la defensa frente a virus.

Sin embargo, la relación con el envejecimiento en sí aún no está clara. Varios estudios apuntan a que la disminución de células madre hematopoyéticas en contribución con estados de anemia, no vacunación o tumorigenesis, están relacionados con un incremento de la actividad de mTORC1 en ratones adultos¹³.

5.3.7. Senescencia celular

La senescencia celular constituye una ruta alternativa de respuesta a la muerte celular programada. Las células senescentes se caracterizan por un tamaño incrementado de la masa celular y mitocondrial, una disfunción de la misma y un desarrollo del fenotipo SASP (del inglés, senescence-associated secretion phenotype). La senescencia se puede desencadenar en respuesta a varias señales y dependiendo del contexto, puede ser beneficiosa (reparación tisular o supresión de tumores) o no (envejecimiento). Los efectos negativos están relacionados con SASP, un complejo formado por citoquinas, factores de crecimiento o proteasas que promueven la inflamación, la angiogénesis, la degradación tisular y el crecimiento tumoral. Debido a esto, las células senescentes se caracterizan por ser muy activas metabólicamente, presentando una elevada síntesis proteica. mTORC1 presenta un papel importante a la hora de regular la secreción de este fenotipo y, por tanto, su inhibición previene este proceso.

Por otro lado, no debemos olvidar, tal y como se ha mencionado previamente, que la senescencia está muy relacionada con otros marcadores como la disfunción mitocondrial o la desregulación de la proteostasis, tanto como causa como consecuencia³.

5.3.8. Restricción calórica (RC)

Se define como la reducción de la ingesta de nutrientes sin alcanzar el estado de malnutrición. Dada la función crítica que presenta mTORC1 en la detección de nutrientes e insulina en el medio intracelular, se ha especulado sobre si los efectos beneficiosos de esta restricción son también como consecuencia de una reducción en la señalización de esta vía. De hecho, se ha observado que la restricción calórica no contribuye más a la longevidad de ratones o levaduras cuando la vía ya está disminuida⁴. Sin embargo, en moscas ocurre lo contrario¹³.

El resultado en humanos aún es desconocido. Sí que se han realizado estudios sobre los efectos de una restricción en la dieta basada en una disminución de la ingesta de macronutrientes, lo que no implica una menor ingesta de calorías. Dichos resultados fueron positivos y, de hecho, más efectivos cuando los macronutrientes implicados eran proteínas o

aminoácidos. Es más, las probabilidades de padecer cáncer y diabetes en humanos se vieron reducidas³.

5.4. Tejidos afectados, patologías asociadas y enfoque clínico

5.4.1. Cerebro

mTOR se ha postulado como uno de los principales reguladores del desarrollo, la funcionalidad neuronal y la adecuada función cognitiva³.

Mientras que la ausencia de Raptor o Rictor en neuronas ha demostrado estar relacionada con una disminución del tamaño y una muerte neuronal más temprana, la hiperactividad de mTORC1 se ha asociado a algunos desordenes neuronales como la epilepsia o el autismo, así como la presencia de tumores benignos en pacientes con TSC.

Los estudios apuntan a que la importancia de mTOR en este ámbito se debe principalmente a su papel en la traducción del RNAm cerca de la sinapsis neuronal, un paso crítico en el proceso de formación. También cabe destacar su papel en la regulación de la autofagia, pues una disfunción de la misma (y de la proteostasis en general) así como una reducción del metabolismo glucídico y de la función mitocondrial, están estrechamente implicadas en la patogénesis de diversas enfermedades neurodegenerativas como el Parkinson o el Alzheimer⁴. Las enfermedades neurodegenerativas se asocian a una pérdida permanente de la estructura y función neuronal. La predisposición genética y la edad son los principales factores de riesgo de estas patologías mientras que, como ya hemos mencionado anteriormente, el principal marcador común en todas ellas es la acumulación de agregados proteicos⁸.

Desde el punto de vista clínico, se ha observado que la inhibición de mTORC1 con rapamicina (o análogos) promueve la autofagia in vitro y reduce la severidad de la neurodegeneración en algunos modelos in vivo. En este contexto, el desarrollo de nuevas moléculas inhibitoras, que también reduzcan la síntesis proteica, es interesante. Se cree que éstas, puedan ser más eficientes en el tratamiento de esas enfermedades. Desde un punto de vista sistémico, sin embargo, el uso de las mismas a largo plazo podría causar daños en otros tejidos, así como alteraciones metabólicas, de ahí la importancia de que dichas moléculas posean una actividad selectiva⁸.

5.4.2. Tejido adiposo

Podemos distinguir dos tipos de tejido adiposo:

- Tejido adiposo blanco, encargado del almacenamiento de energía en forma de triglicéridos, así como de mediar la señalización hipotalámica del estado energético.
- Tejido adiposo marrón, que disipa la energía en situaciones de exceso calórico o exposición al frío mediante la producción de calor. Protege frente a la obesidad u otras enfermedades metabólicas y se caracteriza por presentar una mayor densidad y actividad mitocondrial. Con la edad, se produce una reducción de este tejido³.

Como se ha mencionado previamente, mTOR juega un papel importante en la promoción de la adipogénesis y la conversión del tejido marrón en tejido blanco. Recordemos que la expansión del tejido adiposo que caracteriza al estado de obesidad, es uno de los factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2⁸. Es más, mTORC1 es un efector esencial para el

crecimiento y la supervivencia de las células β . Una hiperactivación crónica del mismo en los islotes pancreáticos (común en individuos con DM2) produce la muerte de dichas células β y una alteración del mecanismo compensatorio de secreción de insulina⁶.

Por lo que, además de mediar la activación de factores adipogénicos/lipogénicos, mTORC1 también promueve la resistencia a la insulina en el tejido adiposo. Recordemos que la señalización de insulina está involucrada en el control de la longevidad en un gran espectro de organismos. Esta reducción en la acción de la insulina, exacerba la resistencia sistémica a la misma mediante la liberación de ácidos grasos libres por los adipocitos, la deposición ectópica de la grasa y la lipotoxicidad⁸.

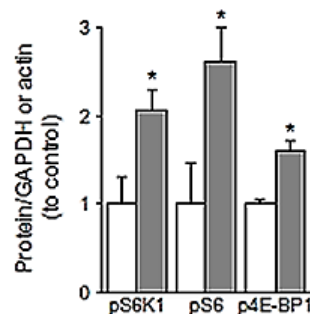


Ilustración 6.-Densitometría de las dianas de mTORC1: pS6K, pS6 y p4E-BP1. Las barras blancas corresponden a los islotes control y las grises a los islotes tratadas con altos niveles de glucosa¹⁸.

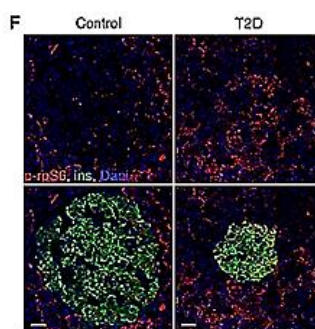


Ilustración 7.-Inmunotinción de la insulina (verde) en secciones representativas del páncreas de donantes humanos con y sin DM2¹⁹.

De nuevo, y desde el punto de vista clínico, se ha especulado sobre los posibles efectos beneficiosos de una inhibición de mTORC1 en el tejido adiposo mediada por rapamicina o análogos de esta³. Sin embargo, en varios estudios realizados en modelos animales, se observó que el uso de estas moléculas de forma crónica causaba hiperlipidemia, resistencia severa a la insulina e intolerancia a la glucosa, así como promoción de la gluconeogénesis hepática. Esta ineficacia de la rapamicina se explica mediante el hecho de que una inhibición crónica de mTORC1 implica la desregulación de otros procesos necesarios en el mantenimiento de la funcionalidad del tejido. Por este motivo, se está especulando sobre los posibles beneficios del uso de dosis menores de rapamicina que ayuden a normalizar el metabolismo, pero sin llegar a inhibir completamente a mTORC1⁸.

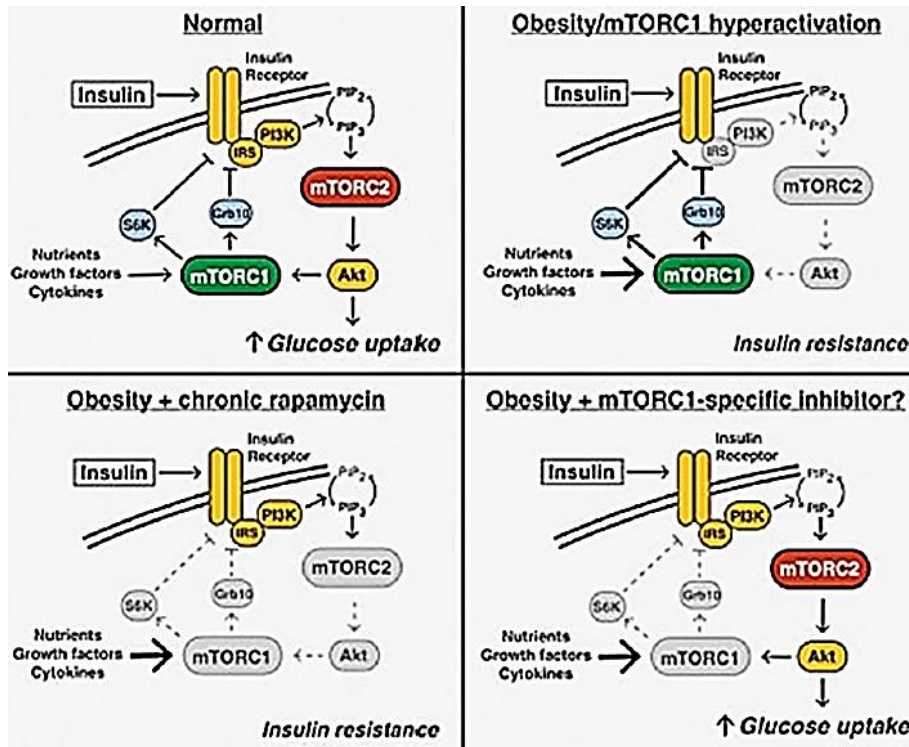


Ilustración 8. -Desregulación de mTORC1 en situaciones de resistencia a la insulina/diabetes, y el efecto de la rapamicina o un posible inhibidor específico⁴.

5.4.3. Tejido cardiaco

mTORC1 es imprescindible para el normal desarrollo, mantenimiento y función del tejido cardiaco. Sin embargo, su supresión ha demostrado efectos beneficiosos sobre corazones envejecidos, pues mejora las funciones cardiovasculares y revierte o atenúa patologías cardiacas relacionadas con la edad como la inflamación y la fibrosis. Se cree que esto se debe principalmente al efecto reversor de la rapamicina sobre los cambios proteicos que caracterizan a estos procesos y que implican una reducción en la abundancia de proteínas involucradas en diversas funciones mitocondriales, en la cadena de transporte de electrones, en el metabolismo de ácidos grasos...etc³.

5.4.4. Masa muscular

El envejecimiento del músculo se caracteriza por una pérdida progresiva de la fibra muscular, lo que culmina en una atrofia o sarcopenia. Aunque la señalización de mTORC1 es necesaria para el incremento de la masa muscular en respuesta al ejercicio o a un daño en el tejido³, estudios recientes han asociado la activación de mTORC1 y, sobre todo, la actividad de factores de crecimiento como el IGF1 o aminoácidos como la leucina (mediados por este complejo), con la aparición de hipertrofia en cultivos celulares y ratones⁴. Es más, una hiperactivación crónica de mTORC1 produce anomalías mitocondriales, estrés oxidativo y daño o pérdida de las fibras musculares. Por otro lado, se ha observado que la supresión de Raptor también causa atrofia muscular severa y pérdida de peso corporal, culminando en una muerte temprana del organismo. Este hecho no se ha apreciado con la supresión de Rictor, lo que sugiere que las funciones críticas a nivel del músculo están asociadas a mTORC1 y no al

complejo 2. Estos resultados sugieren que la alternancia de periodos de alta y baja actividad de mTORC1 es esencial para el óptimo funcionamiento de la masa muscular⁴.

Cabe recordar que, dentro del tejido muscular, el músculo esquelético es un captador de glucosa en respuesta a la ingesta e insulina, y que una alteración de sus funciones contribuye al desarrollo de diabetes tipo 2⁸.

5.4.5. Piel

Desde el punto de vista dermatológico, el proceso clave asociado con mTOR es la senescencia celular. Tal y como se ha mencionado previamente, esta conlleva un crecimiento y progresión tanto de la masa celular como del ciclo celular. Cuando el ciclo celular es súbitamente bloqueado por aumento de p16 o p21, mTOR activa el intercambio entre el estado de quiescencia y el estado de senescencia celular (geroconversión). Sin embargo, ese incremento de la función celular que se produce como consecuencia de dicha conversión, deriva en un agotamiento celular secundario, un daño tisular y una pérdida de función en los estadios finales²⁰.

Varios estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado la capacidad que tienen la rapamicina y sus análogos de suprimir la geroconversión²²⁻²⁷. Es por este motivo que en el año 2007 se planteó la utilización de rapamicina, administrada por vía tópica, para la prevención y tratamiento de la piel envejecida. En ese momento, la idea de usar rapamicina por vía tópica no era novedosa pero sí el hecho de ser usada con fines anti envejecimiento. Actualmente, sí que se han descrito docenas de usos terapéuticos en pacientes con enfermedades asociadas a la piel como malformaciones linfáticas, anomalías vasculares, psoriasis o angiofibroma facial. En concreto, un estudio²¹ demostró que la aplicación de una crema a base de rapamicina mejoraba el tono y estado de la piel, disminuía las arrugas y aumenta el volumen dermal.

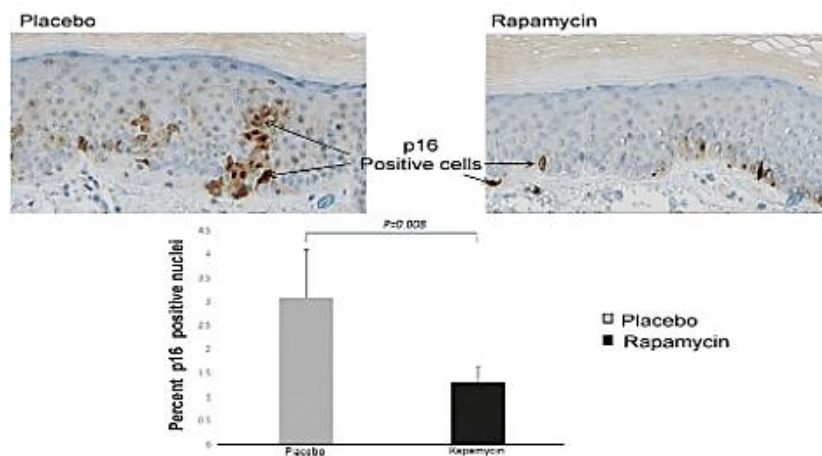


Ilustración 9.-Tratamiento con rapamicina por vía tópica reduce la expresión del regulador de la senescencia celular p16²¹.

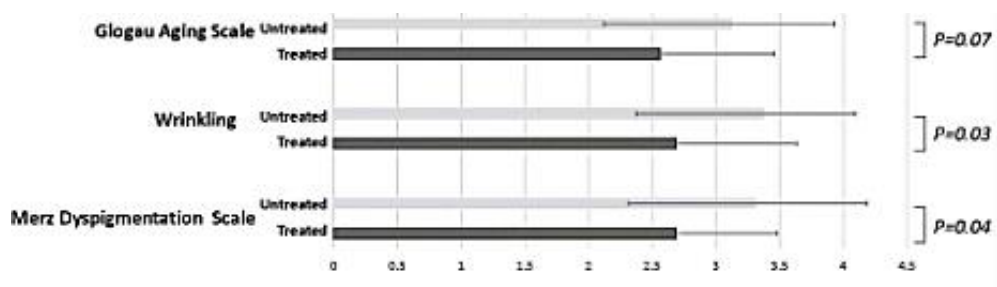


Ilustración 10.-Resultados generales del estudio²¹.

Como cosmético, por tanto, puede ser aplicado exclusivamente en áreas concretas como la cara o las manos. Para una aplicación más extensa, un uso sistémico podría resultar más beneficioso pues, una mayor área de piel afectada correspondería a una manifestación de otra enfermedad sistémica en el organismo. Por esto mismo, se está planteando la utilización de una combinación de ambas vías de administración. El principal problema sigue siendo, sin embargo, el desconocimiento de si estos fármacos verdaderamente revierten o simplemente retrasan el envejecimiento²⁰.

5.4.6. Cáncer

Varios estudios apoyan la importancia de la proteína mTOR en la patogénesis del cáncer. Muchos de los componentes de la vía PI3K, que está regulada por ambos complejos de mTOR, están mutados en diferentes cánceres humanos. Además, la pérdida de la proteína p53, un evento característico en gran cantidad de procesos tumorales, promueve la activación de mTORC1. Por otro lado, varios procesos cancerosos también surgen de mutaciones en los genes que codifican proteínas que forman parte de la vía mTOR⁸, así como mutaciones de mTOR en sí mismo, relacionados también con una gran variedad de tumores⁴.

La activación de mTOR induce varios procesos requeridos para el crecimiento de células cancerosas, su supervivencia y proliferación. La evidencia apunta a que la desregulación de la síntesis de proteínas, mediada por mTORC1 a nivel de 4E-BP1/eIF4E, juega un papel central en la formación de tumores. Exactamente cómo esto contribuye al desarrollo del cáncer, no está claro todavía. Se cree que eIF4E afecta a la proliferación celular y la tumorigénesis mediante la promoción de la traducción del RNAm, lo que implica la codificación de proteínas proto-oncogénicas que regulan procesos de supervivencia celular, progresión del ciclo celular, angiogénesis, metabolismo de la energía y metástasis. Además, el incremento de la biogénesis ribosomal ligado a la activación de mTOR probablemente también promueva la proliferación celular mediante la prestación de la maquinaria necesaria para ello.

Otro punto clave es la activación de la vía PI3K que, en células cancerosas, provoca una fuerte inhibición de la autofagia⁸.

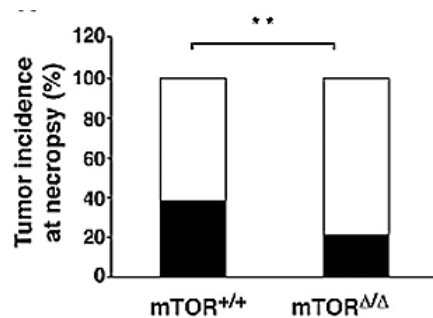


Ilustración 11.-Incidencia de tumores malignos en modelos de ratones sin y con la expresión de mTOR reducida²².

Desde el punto de vista clínico, ha habido un especial interés en la búsqueda de terapias antitumorales basadas en fármacos inhibidores de la vía mTOR pero que fueran diferentes de la rapamicina.

Los primeros, se aprobaron en el año 2007 y fueron una clase de rapamicinas denominadas “rapalogs”: Temsirolimus (Ptifer) para el tratamiento del carcinoma renal y Everolimus (Novartis) para el tratamiento del TSC. En general, la eficacia de estos no fue la anticipada por los modelos pre clínicos. Estos resultados negativos se han intentado explicar mediante varios conceptos. El primero de ellos establece que, como inhibidores alostéricos que son, los “rapalogs” bloquean la fosforilación de algunos, pero no todos, los sustratos de mTORC1. En particular, la fosforilación de 4E-BP1 es parcialmente insensible a rapamicina. En segundo lugar, la inhibición de mTORC1 implica un feedback negativo de la vía insulina/PI3K/Akt, lo que paradójicamente promueve la supervivencia celular y previene la apoptosis en algunos contextos. Es más, una mayor señalización de Akt ha sido observada en biopsias de pacientes sometidos a tratamiento con Everolimus, lo que ayudaría a explicar por qué los “rapalogs” tienen un mayor efecto citostático que citotóxico en determinadas células tumorales. Por último, la inhibición del complejo 1 también promueve la macropinocitosis, proceso donde las proteínas extracelulares son internalizadas y degradadas dando lugar a aminoácidos que funcionan como nutrientes para las células cancerosas⁴.

Con el fin de solventar estos inconvenientes, se desarrollaron una segunda generación de fármacos que, a diferencia de la rapamicina, inhiben directamente la actividad catalítica de mTOR pues actúan como inhibidores competitivos de ATP. Esto implica que son capaces de fosforilar todas las dianas conocidas de ambos complejos, lo que los hace más efectivos para el tratamiento de determinados tipos de cáncer⁸. El principal problema de éstos sigue siendo el feedback negativo que se produce como consecuencia de la activación de la vía de la insulina/PI3K en respuesta a estos inhibidores y que culmina por revertir los efectos en un tratamiento a largo plazo. Es por esto, que se está planteando la posibilidad de recurrir a la utilización de inhibidores duales de PI3K/mTOR. Estos inhibidores, según los resultados obtenidos en preclínica y clínica, son prometedores, pero aún hay ciertas dudas sobre sus posibles efectos tóxicos en células normales, lo que limitaría su ventana terapéutica⁴. Por último, también se está estudiando la identificación de posibles biomarcadores que

permitiesen determinar qué tumores responderían a un tratamiento con rapamicina o análogos, aunque esto en el contexto clínico ha resultado ser más complejo⁸.

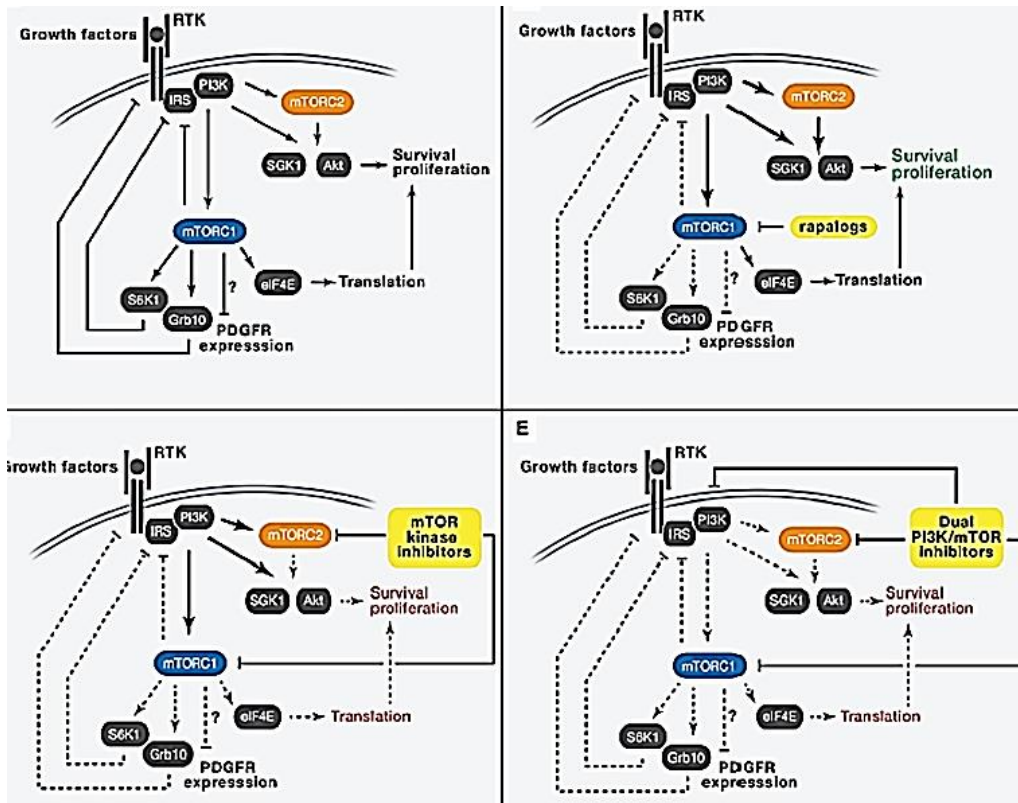


Ilustración 12.-Comparativa de las diferentes alternativas terapéuticas⁸.

6. Conclusiones

El descubrimiento de los efectos beneficiosos de los inhibidores de mTOR sobre la esperanza de vida y el retraso en el desarrollo de enfermedades asociadas a la edad en mamíferos, llevó al desarrollo de moléculas destinadas a estos fines. Independientemente de que su uso farmacológico fuese aprobado por la FDA, y que, desde el punto de vista clínico, determinados fármacos han dado resultados positivos en algunos contextos y patologías, sigue habiendo numerosa información sobre los inconvenientes de la utilización de estas moléculas en humanos³. Específicamente, y dada las funciones críticas de mTOR en la mayoría de los tejidos humanos, estos inconvenientes se relacionan con la toxicidad dependiente de la dosis, la inespecificidad de tejido o los efectos que derivan de una inhibición no deseada del complejo 2⁸. Por este motivo, los principales efectos adversos que más comúnmente se han observado son la inmunodepresión, la hiperglicemia y la dislipemia³. Por otro lado, y dado que los inhibidores de mTOR generalmente se administran en combinación con otros fármacos como esteroides o inhibidores de la proliferación en pacientes con enfermedades severas o potencialmente mortales, el uso de estos inhibidores como terapia preventiva en la población sana o con enfermedades crónicas que requieren de un tratamiento a largo plazo, podría no ser tolerable. Si así fuera el caso, un mayor entendimiento de las funciones de las proteínas que interactúan con mTOR o de los efectos que provoca su inhibición, podría permitir el desarrollo de formas más precisas de promover la longevidad. Por ejemplo, mediante

isoformas específicas y diferenciadas para cada uno de los componentes de la vía de señalización⁸.

En conclusión, definir los mecanismos exactos y los tejidos afectados en los cuales la inhibición de mTOR promueve la longevidad y reduce las enfermedades relacionadas con la edad, cobra una importancia no solo científica sino también socioeconómica³. Y en ese sentido, quedan aún mucho camino por conocer y desarrollar.

7. Bibliografía

1. García Aguilar, A. (2017). Mecanismos moleculares de regulación de la vía mTORC1/p70S6K, autofagia y mitofagia: papel de TSC2 (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
2. Chellappa, K., Brinkman, J. A., Mukherjee, S., Morrison, M., Alotaibi, M. I., Carbajal, K. A., ... & DeFelice, D. M. (2019). Hypothalamic mTORC2 is essential for metabolic health and longevity. *Aging cell*, *18*(5), e13014.
3. Papadopoli, D., Boulay, K., Kazak, L., Pollak, M., Mallette, F., Topisirovic, I., & Hulea, L. (2019). mTOR as a central regulator of lifespan and aging. *F1000Research*, *8*.
4. Saxton, R. A., & Sabatini, D. M. (2017). mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell*, *168*(6), 960-976.
5. Wang, Z., Jin, W., Jin, H., & Wang, X. (2014). mTOR in viral hepatitis and hepatocellular carcinoma: function and treatment. *BioMed research international*, *2014*.
6. Guillén, C., & Benito, M. (2018). mTORC1 overactivation as a key aging factor in the progression to type 2 diabetes mellitus. *Frontiers in endocrinology*, *9*, 621.
7. Escobar Cabello, M., & Márquez Andrade, J.L. (2014). El diafragma, carencia de estudios en el metabolismo de proteínas. *REEM*.
8. Laplante, M., & Sabatini, D. M. (2012). mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, *149*(2), 274-293.
9. Melnik, B. (2012). Dietary intervention in acne: Attenuation of increased mTORC1 signaling promoted by Western diet. *Dermato-endocrinology*, *4*(1), 20-32.
10. Iriarte Oporto, Z. G. (2012). Rapamicina una perspectiva contra el envejecimiento. *Revista SCientífica*, *10*, 25.
11. Noguera, A., Massó, J., Soy, D., Codina, C., & Ribas, J. (2002). Sirolimus: una nueva alternativa en el tratamiento inmunosupresor. *Farmacia Hospitalaria*, *26*(2), 96-105.
12. Arriola Apelo, S. I., & Lamming, D. W. (2016). Rapamycin: an InhibiTOR of aging emerges from the soil of Easter Island. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, *71*(7), 841-849.
13. Weichhart, T. (2018). mTOR as regulator of lifespan, aging, and cellular senescence: a mini-review. *Gerontology*, *64*(2), 127-134.
14. 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 16.460:392–395. [PubMed: 19587680]
15. Vellai T, Takacs-Vellai K, Zhang Y, Kovacs AL, Orosz L, Müller F. Genetics: influence of TOR kinase on lifespan in *C. elegans*. *Nature*. 2003 Dec 11.426:620.

16. Kapahi P, Zid BM, Harper T, Koslover D, Sapin V, Benzer S. Regulation of lifespan in *Drosophila* by modulation of genes in the TOR signaling pathway. *Curr Biol*. 2004 May 25;14:885–890. [PubMed: 15186745].
17. Kaeberlein M, Powers RW, Steffen KK, Westman EA, Hu D, Dang N, et al. Regulation of yeast replicative life span by TOR and Sch9 in response to nutrients. *Science*. 2005 Nov 18;310:1193–1196. [PubMed: 16293764]
18. Yuan, T., Rafizadeh, S., Gorrepati, K. D. D., Lupse, B., Oberholzer, J., Maedler, K., & Ardestani, A. (2017). Reciprocal regulation of mTOR complexes in pancreatic islets from humans with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 60(4), 668-678.
19. Jaafar, R., Tran, S., Shah, A. N., Sun, G., Valdearcos, M., Marchetti, P., ... & Matveyenko, A. (2019). mTORC1-to-AMPK switching underlies β cell metabolic plasticity during maturation and diabetes. *The Journal of clinical investigation*, 129(10).
20. Blagosklonny, M. V. (2019). Rapamycin for the aging skin. *Aging (Albany NY)*, 11(24), 12822.
21. Chung, C. L., Lawrence, I., Hoffman, M., Elgindi, D., Nadhan, K., Potnis, M., ... & Sell, C. (2019). Topical rapamycin reduces markers of senescence and aging in human skin: an exploratory, prospective, randomized trial. *GeroScience*, 41(6), 861-869.
22. Blagosklonny, M. V. (2018). Rapamycin, proliferation and geroconversion to senescence. *cell cycle*, 17(24), 2655-2665.
23. Sousa-Victor, P., García-Prat, L., & Muñoz-Cánoves, P. (2015). Dual mTORC1/C2 inhibitors: gerosuppressors with potential anti-aging effect. *Oncotarget*, 6(27), 23052.
24. Sousa-Victor, P., Perdiguero, E., & Muñoz-Cánoves, P. (2014). Geroconversion of aged muscle stem cells under regenerative pressure. *Cell Cycle*, 13(20), 3183-3190.
25. Chen, C., Liu, Y., Liu, Y., & Zheng, P. (2009). mTOR regulation and therapeutic rejuvenation of aging hematopoietic stem cells. *Sci. Signal.*, 2(98), ra75-ra75.
26. Iglesias-Bartolome, R., Patel, V., Cotrim, A., Leelahavanichkul, K., Molinolo, A. A., Mitchell, J. B., & Gutkind, J. S. (2012). mTOR inhibition prevents epithelial stem cell senescence and protects from radiation-induced mucositis. *Cell stem cell*, 11(3), 401-414.
27. Herranz, N., Gallage, S., Mellone, M., Wuestefeld, T., Klotz, S., Hanley, C. J., ... & Georgilis, A. (2015). mTOR regulates MAPKAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype. *Nature cell biology*, 17(9), 1205-1217.
28. Wu, J. J., Liu, J., Chen, E. B., Wang, J. J., Cao, L., Narayan, N., ... & Lago, C. U. (2013). Increased mammalian lifespan and a segmental and tissue-specific slowing of aging after genetic reduction of mTOR expression. *Cell reports*, 4(5), 913-920.