

Los relojes de la vida y periodos vitales¹

Biological clocks and life periods

Ángel Agis Torres

Académico Correspondiente de la Sección de Farmacia de la Real Academia de Doctores de España
aagisto@farm.ucm.es

RESUMEN

Extender la duración de la vida es uno de los sueños ancestrales de la humanidad, motivando una búsqueda del elixir de la eterna juventud, la mayoría de las veces siguiendo caminos extraños y absurdos. La realidad es que la vida de los seres vivos está cronometrada y regulada por los llamados relojes biológicos. Conocerlos mejor puede ser clave para conseguir beneficios en la duración y mejora de las condiciones del periodo vital. Solo recientemente se ha comenzado a comprender el funcionamiento de los relojes y temporizadores biológicos; cada uno relevante en un ámbito temporal diferente, pero con conexiones entre ellos. Hay que destacar que tanto el genoma como el metabolismo intervienen como parte en los mecanismos cronobiológicos, sin embargo, todavía no se ha encontrado ninguna solución consistente y viable respecto a la modificación del periodo vital en los humanos, ni a través de la modificación de esos relojes ni tampoco mediante otras posibilidades terapéuticas, como los mecanismos epigenéticos o la reprogramación celular. Hay importantes escollos que impiden llegar a buen puerto, por ejemplo, el hecho de que es diferente el comportamiento de una célula aislada, en unas condiciones experimentales determinadas, frente al de un organismo completo, que es un sistema mucho más complejo y regulado cuidadosamente por los mecanismos fisiológicos correspondientes. Además, no hay garantía de que una posible vuelta a un estado juvenil no esté exenta de riesgos para la integridad del individuo o de la comunidad. Vamos a realizar un viaje por esos relojes biológicos, sus mecanismos y las principales implicaciones de su funcionamiento.

PALABRAS CLAVE: relojes de la vida, periodos vitales, metabolismo, genoma.

ABSTRACT

Life extension is one of the greatest humanity's dreams and thus it has motivated the search for the elixir of eternal youth, that sometimes has led to strange and absurd paths. Biological clocks are the mechanisms that regulate time passage in living beings; consequently, a better knowledge of them might improve both duration and quality of life. The mechanisms of biological clocks, that rely

¹ Discurso de ingreso como Académico Correspondiente del Dr. D. Ángel Agis Torres en la Real Academia de Doctores de España el 27-11-2017.

on genome and metabolism, have begun to be unveiled only recently. It has been discovered that each clock has a different time scope but there are connections among them. However, no consistent and viable solution has yet been found regarding the modification of the life period extension in humans, either through the modification of these clocks or through other therapeutic possibilities, such as epigenetic mechanisms or cell reprogramming. The fact that the behavior of an isolated cell is different, under certain experimental conditions, from that of a complete organism, which is a much more complex system and carefully regulated is one of the most discouraging obstacles in the way. In addition, there is no guarantee that a possible return to a youth state will not imply risks to the integrity of the individual or the community. The aim of this work is to show a view of the biological clocks, their mechanisms, and the main implications of their operation.

KEYWORDS: biological clocks, life periods, metabolism, genome.

1.- INTRODUCCIÓN. ¿QUÉ ES EL TIEMPO?

No está en nuestra mano alterar el tiempo cronológico, ni se atisba una posibilidad de conseguirlo, pero ansiamos modificar el ritmo de nuestras vidas y atenuar las consecuencias del tiempo sobre nuestro ser; ese ha sido, y es, uno de los sueños más profundos de la humanidad.

El ser humano tiene consciencia del tiempo cronológico y lo que ello significa para su vida. Sin embargo, a pesar de que el tiempo es una noción intuitiva, tanto por la persona en particular como por la cultura en general de las poblaciones; no se conoce que haya un sentido ni órgano específico que proporcione una sensación o percepción del tiempo. Si, como en otros conceptos adquiridos por la experiencia, la sensación del tiempo tiene un origen sensorial, entonces antes de llegar ese ámbito cognitivo debe ser asimilado y procesado por las funciones sensoriales del organismo, que actúan como puerta de entrada al conocimiento y le dan un significado cognitivo. Por otra parte, existe una íntima relación entre tiempo y el entorno cultural, ya que el tiempo está indisolublemente unido a los usos, costumbres y legado cultural de las poblaciones humanas de una manera específica, por lo que ese concepto aparentemente sólido y universal se particulariza para una sociedad en una época determinada. Entonces, la naturaleza del tiempo es intangible y, como concepto, no tiene una definición universal. Incluso en el ámbito de la cultura occidental surgen diferentes definiciones; así San Agustín dijo hace unos 1600 años al respecto: “¿Qué es, pues, el tiempo? [...] Si nadie me lo pregunta, lo sé; pero si quiero explicárselo al que me lo pregunta, no lo sé” (San Agustín. Confesiones, XI, XIV, 17). Muy recientes son las palabras de Einstein manifestando su creencia en el carácter intangible del tiempo: “La diferencia entre el pasado, el presente y el futuro es sólo una ilusión persistente”. Baltasar Gracián es contundente: “no tenemos otra cosa nuestra más que el tiempo”; y Jorge Luis Borges expresa que estamos vinculados indefectiblemente a él:

El tiempo es la sustancia de que estoy hecho.

El tiempo es un río que me arrebató, pero yo soy el río;
es un tigre que me destroza, pero yo soy el tigre;
es un fuego que me consume, pero yo soy el fuego

El concepto formal de tiempo enciende acaloradas discusiones sobre su naturaleza e implicaciones, pero podríamos afirmar que, desde un punto de vista científico, al tiempo se le proporciona una dimensión espaciotemporal: la cuarta dimensión, que coexiste con las tres dimensiones geométricas. Puede resultar sorprendente constatar esa dimensionalidad del tiempo en algunos aspectos socioculturales. Así, en muchos idiomas, entre ellos en el español y en otras lenguas occidentales, al tiempo se le atribuye dimensionalidad, aunque sea metafóricamente, y decimos que el día se nos hace largo, pero también situados sobre

la línea temporal de la vida expresamos que podemos mirar atrás, como quien contempla la distancia que le separa de un punto de partida.

Pero el tiempo no está solo, ya que forma una entidad indisoluble con el espacio, constituyendo el espacio-tiempo propuesto por Hermann Minkowski. Este matemático fue profesor de Einstein, y basó su desarrollo conceptual en la teoría de la relatividad especial de su antiguo alumno. Por uno de esos curiosos giros del destino que suceden a veces, Einstein, a su vez, utilizó el espacio descrito por su antiguo maestro para completar su teoría general de la relatividad; cuya trascendencia es enorme, ya que llevó a la ruptura del concepto temporal inmutable y absoluto que se había mantenido dominante hasta ese momento en la ciencia occidental. Aunque es uno de esos principios de la ciencia que parecen difíciles de cambiar, no hay nada en el conocimiento humano que no sea susceptible de ser revisado o incluso desechado frente a nuevos conocimientos que expliquen mejor la realidad. Cabe preguntarse si el concepto de una dimensión espaciotemporal, útil a la física, puede aplicarse al medio biológico. En este sentido, se ha sugerido que ambos parámetros están íntimamente ligados al funcionamiento de los circuitos neuronales, como se desprende de las evidencias lingüísticas, psicofísicas y neurofisiológicas (Hardy y Buonomano 2018) (Goudar y Buonomano 2018).

El concepto “tiempo” (tiempo cronológico) puede referirse a diferentes entidades temporales, cada una de ellas con su propia naturaleza y métrica. En primer lugar, el tiempo referencial o cronológico, que es la conceptualización del paso de los días, de las estaciones, de los años. El tiempo existe gracias a que se puede referenciar y medir. En paralelo a la historia del progreso de la humanidad hay una historia del desarrollo de sistemas que miden y referencian el paso del tiempo: relojes, cronómetros, y calendarios; que son origen y a su vez hijos de la cultura de las comunidades en una era y una localización determinadas, condicionan y se dejan condicionar. Así, en la Grecia clásica se establecen unos periodos de tiempo, a veces diferentes de los actuales: se definen, entre otros periodos temporales, los siguientes: “*émar*” (día), “*meís*” (mes), “*étos*” (año), “*aión*” o “*eón*”, que a partir del siglo V a.C. empezó a significar “eternidad”; además del “*periétos*”, el tiempo que retorna al origen. No es la única cultura que percibe el tiempo como un proceso cíclico y repetitivo. También la métrica al someterse a un sistema de numeración determinado por el entorno cultural de una civilización condiciona la medida del tiempo. Así, surgen el calendario vigesimal maya o el sexagesimal utilizado en la actualidad, procedente de la herencia cultural de la matemática sumeria, que parece explicar su éxito por la facilidad para representar las fracciones. El tiempo y su medida, siempre ligada al entorno cultural, ha permitido catalizar el avance del conocimiento y de la técnica: desde clepsidras y relojes de arena hasta el cronómetro como herramienta para su uso en la navegación astronómica, al poder determinar la longitud, así como la hora precisa para la situación de los astros de acuerdo con el almanaque náutico, antes del advenimiento de

los sistemas de posicionamiento global por satélite (GPS), y precisamente estos últimos sistemas referenciales son posibles gracias a la medida de periodos de tiempo inconcebibles para la mente por su extrema brevedad.

¡Los dioses confundan al primer hombre que descubrió
la manera de distinguir las horas, y confundan también
a quien en este lugar colocó un reloj de sol
para cortar y destrozar tan horriblemente mis días
en fragmentos pequeños!
... ni siquiera puedo sentarme a comer a menos que el sol se marche.
La ciudad está tan llena de esos malditos relojes...

Plauto (200 a.C.)

Se puede constatar la existencia de otro tiempo que es el tiempo percibido o sentido por la persona (tiempo psicológico), por tanto, subjetivo, que se comporta de una manera voluble ya que parece expandirse o contraerse de acuerdo con las circunstancias. Es diferente al tiempo cronológico, y está supeditado a él. Sería la interpretación personal del *Krónos* universal, para el que los griegos emplearon el término *kairós*. Ese tiempo percibido es algo psicológicamente real y estructurado. Aunque aproximadamente cuantificable, el tiempo percibido se comporta de manera elástica al depender de la evaluación subjetiva.

Hay una tercera modalidad de tiempo que es la correspondiente al tiempo que experimentan los seres vivos durante su existencia y que se puede denominar tiempo biológico o vital. A primera vista no parecería que el tiempo vital fuera diferente del cronológico, pero, aunque se entiende que haya una evidente relación entre ambos tiempos, no son lo mismo y, entre otras circunstancias, en el ser vivo, se pueden producir modificaciones de la velocidad de su propia cronología. Además, durante el periplo vital tienen lugar otros periodos de menor duración pero que también resultan relevantes para el ser vivo. Estos periodos ordenan las funciones orgánicas que tienen lugar durante esos ámbitos temporales o que están marcados por ellos, gracias a que cuentan con unos mecanismos temporizadores o relojes biológicos que funcionan en consonancia con cada uno de esos periodos. Una complicación añadida se debe a que los relojes biológicos interactúan entre ellos y con otros sistemas de regulación del ser vivo, permitiendo que se regulen y ajusten mediante la intervención de factores internos y externos. Por todo ello, no parece fácil obtener información de la cronología biológica del modo en que la obtenemos de los relojes y calendarios para conocer cómo discurre el tiempo de la vida, no están contruidos para facilitar la tarea del observador externo, simplemente buscan la eficacia en su funcionamiento. Aun así, se pueden constatar los efectos de su acción por señales secundarias que se manifiestan, por ejemplo, en el aspecto físico o en el declive de las funciones fisiológicas. Sin embargo, se entiende que el conocimiento de los

mecanismos implicados y de las circunstancias que pueden modificar su funcionamiento ofrecería respuestas a muchas de las cuestiones planteadas en relación con el envejecimiento y a los procesos deletéreos asociados. El problema recae, precisamente, en conocer la naturaleza del reloj biológico vital (las opiniones al respecto es que puede ser uno, varios, o ninguno) así como de los relojes secundarios. A pesar de la marcada relevancia de los relojes biológicos en la fisiología de los seres vivos, no se ha tenido conocimiento de su existencia sino hasta hace relativamente poco tiempo, no hay prácticamente investigaciones al respecto hasta finales del siglo XX y principios del XXI. La propia cronología de la investigación de la cronobiología ha sido algo azarosa, por factores que no tienen tanto que ver con su mayor o menor amplitud, sino con circunstancias aisladas, como el hecho de que sean más o menos evidentes. Además, diseccionar sus mecanismos como si de engranajes de reloj se tratase no es nada sencillo, dada la complejidad de sus mecanismos y de las relaciones de estos con los sistemas celulares y orgánicos.

Dice la monotonía
del agua clara al caer:
un día es como otro día;
hoy es lo mismo que ayer.
Todo pasa y todo queda
pero lo nuestro es pasar,
pasar haciendo caminos,
caminos sobre la mar.

Antonio Machado

Hay que entender bien lo que es el tiempo para comprender la infinitud, para lo cual habrá que definir duración y cómo este concepto llega al entendimiento. La sensación de existencia está ligada a la sucesión de ideas o eventos percibidos en la mente.

Tiempo y eternidad en “La vida y las opiniones del caballero Tristram Shandy” Sterne

¡Qué obra maestra es un hombre!
Que noble en su razón,
qué infinitas sus facultades,
qué perfecto y admirable en forma y movimiento,
cuán parecido a un ángel en sus actos,
cuán parecido a un dios en entendimiento,
la belleza del mundo,
el parangón de los animales.

W. Shakespeare

2.- HOMEOSTASIS REACTIVA Y HOMEOSTASIS PREDICTIVA

A finales del siglo XIX Claude Bernard establece las principales bases de la investigación fisiológica moderna (Bernard 1865). Bernard busca las respuestas a la constancia del ser vivo en el entorno donde vive, para lo que introduce el concepto de medio interno, constante frente a las modificaciones del medio externo. El ser vivo se mantiene estable, ya que las desviaciones de esa estabilidad son corregidas por los mecanismos que pone en marcha el propio organismo. En palabras de Bernard: “En todos los seres vivos, el medio interior, que es un verdadero producto del organismo, conserva relaciones necesarias de cambios y de equilibrios con el medio cósmico exterior”. Posteriormente, Cannon introduce el concepto de homeostasis (Cannon 1932) que expresa esa capacidad del ser vivo para mantenerse en un estado estable por medio de un mecanismo de regulación que retorna al organismo a su estado predeterminado cuando se produce una desviación de dicho estado. Se ponen en marcha mecanismos que corrigen la modificación o alteración actual para volver al estado estable inicial. El tiempo cronológico es algo implícito en estos mecanismos homeostáticos por los que se vuelve a un estado original o primordial.

La vida hoy tiene ritmo
de ondas que pasan,
de olitas temblorosas
que fluyen y se alcanzan.
La vida hoy tiene el ritmo de los ríos,
la risa de las aguas
que entre los verdes junquerales corren
y entre las verdes cañas.

Antonio Machado

El concepto de homeostasis se modificó más tarde incorporando, además de la función correctiva de la desviación inmediata de algún parámetro fisiológico (homeostasis reactiva), otra función anticipativa de los eventos previsibles (homeostasis predictiva) (Moore-Ede 1986). La anticipación es posible porque en el mundo del organismo las circunstancias se repiten regularmente, por lo que estar preparado para lo que va a venir no hace sino mejorar la adaptación del ser vivo al medio. Para ello se requiere algo imprescindible: la sincronización, que se consigue gracias a que el organismo vivo cuenta con los relojes biológicos. La organización temporal de los procesos celulares y orgánicos permite que exista una coordinación entre el metabolismo (interno) y las previsiones cíclicas ambientales (externo). Esa organización temporal se puede comprobar, por ejemplo, en el hepatocito que lleva a cabo procesos como la lipogénesis y la lipólisis (formación y eliminación de lípidos, respectivamente) dependiendo de si es tiempo de actividad o tiempo de descanso. La célula hepática no puede poner en marcha

simultáneamente los mecanismos de ambas funciones y emplea un conjunto de enzimas u otro dependiendo del momento (Garaulet y Madrid 2009). En el organismo también hay acciones que se producen a unas horas del día bastante específicas como sucede, por ejemplo, con la secreción de cortisol, hormona que prepara al organismo para afrontar los avatares diarios. El cortisol muestra un nivel máximo en la sangre poco antes del despertar matutino (homeostasis predictiva), pero esta liberación episódica de cortisol coexiste con la posibilidad de una secreción aguda de la hormona si en algún momento el organismo se encuentra ante una situación de estrés (homeostasis reactiva) (Sapolsky, Romero y col. 2000).

3.- EL TIEMPO DE LA VIDA Y RITMOS VITALES

El ritmo diario y otros relacionados

El día es quizá el periodo de tiempo más relevante en cuanto a anticipación se refiere: la luz del día siempre va seguida por la oscuridad de la noche, desde los microorganismos hasta los más complejos seres vivientes se ven sometidos a este ritmo diario que condiciona en gran medida su vida. Muchas veces se dice que vivimos la vida día a día y para conseguirlo muchos ritmos de actividad endógena se acompañan a la jornada recibiendo por ello el nombre de circadianos, del latín “circa” (aproximadamente) y “dies” (día). Entre otras funciones, los ciclos circadianos gobiernan las horas de vigilia y de sueño, también modulan el ritmo de secreción de hormonas como el mencionado del cortisol o de la hormona del crecimiento. Para mantener el ritmo diario los organismos necesitan un reloj que se encargue de ello: el reloj circadiano que, entre otras características, posee la capacidad de ajuste (“puesta en hora”), y lo hace, principalmente, mediante la recepción de una señal externa que es la luz del Sol. Hay que resaltar el hecho de que el ritmo circadiano no es un simple producto inmediato del ciclo luz-oscuridad, sino que es realmente un ritmo generado internamente, aunque supeditado a la sincronía externa. Por ello, cuando no hay posibilidad de ajuste, como sucede en ausencia de las señales luz-oscuridad, el ritmo del reloj circadiano persiste. Tampoco son ritmos circadianos los ciclos de actividad que presentan animales como los reptiles, ya que no se deben a un ritmo interno del animal, sino únicamente a la modificación de la temperatura ambiental por efecto de la irradiación solar.

El ritmo circadiano es el ritmo básico sobre el que se construyen los otros ritmos con periodos inferiores o superiores al día -supradianos e infradianos, respectivamente. Reciben su nombre dependiendo de la frecuencia del ritmo: más de una vez o menos de una vez al día, respectivamente; y no del periodo del ritmo. Todos los ritmos muestran un funcionamiento coordinado entre ellos; no parecen funcionar independientemente (Golombek, Bussi y col. 2014).

Los relojes biológicos permiten al ser vivo situarse en un espacio temporal, por ello se cree que el origen de estos relojes es tan antiguo como el propio origen de las primeras células vivas, que habrían desarrollado los mecanismos fundamentales de los relojes biológicos actuales. A este respecto, se constata que, durante la filogenia, los seres vivos han ido disponiendo de diferentes mecanismos cronobiológicos, algunos de los cuales permanecen de una forma o de otra en los organismos actuales. En concreto, se ha propuesto que la mayoría de los relojes circadianos actuales en realidad están constituidos por dos mecanismos de osciladores cronobiológicos, inseparables, uno metabólico y otro genómico (Rey y Reddy 2015).

El ritmo diario del metabolismo

El metabolismo o gestión energética de las células y de los organismos se sincroniza con los ritmos diarios circadianos ya que la disponibilidad de alimentos, así como la actividad para conseguirlos está marcada por el momento del día en que se realiza; también la producción y consumo de oxígeno siguen ciclos regulares (Edgar, Green y col. 2012). Esa organización temporal del metabolismo representa el control homeostático predictivo y organizativo temporal, con un tiempo dedicado al descanso y reposición del cuerpo y sus constituyentes, y un tiempo para la actividad y el gasto energético. Además, la adaptación a las condiciones del entorno incrementa las posibilidades de supervivencia, entre otros aspectos, evitando la presencia de predadores o facilitando la búsqueda de alimentos.

El reloj vinculado a ritmos metabólicos sería el mecanismo cronobiológico más primitivo, perteneciente a un antepasado común de los seres vivos (Lane, Allen y col. 2010). Este hipotético microorganismo llamado LUCA (Last Universal Common Ancestor, el último antepasado común universal) habría organizado su cronología vital de acuerdo con variaciones periódicas del estado de oxidación-reducción (redox) y con la aparición de sistemas de defensa frente al estrés oxidativo, sin que la luz interviniera en ese mecanismo directamente (Edgar, Green y col. 2012). Este mecanismo se encuentra en las células de los seres vivos actuales, tanto bacterias como arqueas (Edgar, Green y col. 2012) y eucariotas (Rhee y Kil 2017), de ahí se ha deducido su origen en LUCA; sin embargo, todavía son bastante desconocidas las implicaciones y consecuencias del funcionamiento de este reloj metabólico, debido a la relativa novedad de la propuesta de su existencia, aunque se va avanzando sobre el conocimiento de sus particularidades.

El mecanismo del reloj metabólico consiste en un bucle dependiente del estado redox celular con intervención de metabolitos y sistemas enzimáticos (Rey y Reddy 2013). Los principales mediadores serían los pares enzimáticos: NAD⁺/NADH (nicotinamida adenina dinucleótido) y NADP/NADPH (nicotinamida adenina dinucleótido fosfato), ambos son transportadores de electrones, proceso básico en el metabolismo celular; el primero de los pares está más relacionado con el catabolismo y el segundo con el anabolismo. Además, se

propone que las peroxirredoxinas (PRDX) desempeñarían un papel crucial en el sistema cronobiológico metabólico (Milev y Reddy 2015). En ese contexto, NAD además de ser un cofactor -óxido reductasa- clave para las reacciones redox celulares, también sería un elemento de conexión entre el reloj metabólico y el mecanismo circadiano transcripcional; además, sería un índice del estado metabólico celular, así como del grado de envejecimiento, ya que se ha comprobado la existencia de una relación entre niveles decrecientes de NAD y un mayor grado de envejecimiento, así como con algunas patologías metabólicas (Yaku, Okabe y col. 2018). Algunas de las funciones más conocidas del NAD, aparte de su participación en reacciones de intercambio de electrones, son su papel en la síntesis de ácidos grasos, colesterol y DNA, así como en la defensa antioxidante (Yang y Sauve 2016) (Chini, Tarrago y col. 2017). La función cronobiológica de NAD se ve sustentada por la evidencia de las fluctuaciones circadianas de sus niveles celulares, así como por su implicación en la modulación de la actividad de enzimas y otros factores clave en los ciclos circadianos como son SIRT1, AMPK y PGC1- α (Naimi, Arous y col. 2010). Por otra parte, la ruta metabólica de las pentosas fosfato regula las oscilaciones circadianas metabólicas a través de NADP y NADPH, cuyo ciclo resuena con el de las PRDX; lo que se ha comprobado al inhibir la ruta de las pentosas fosfato ya que se obtiene un aumento del periodo de oscilación (Rey, Valekunja y col. 2016). Todo ello refuerza la teoría de la integración entre la red metabólica y los mecanismos del reloj celular (Ma, Li y col. 2012), que también se observa mediante la correlación entre la actividad metabólica y la nutrición con esas variaciones cíclicas (Orozco-Solis y Sassone-Corsi 2014); la relación es tan estrecha que determinadas modificaciones en la composición de la dieta, como por ejemplo una ingesta alta en grasa, puede llevar a alteraciones significativas del ritmo de las oscilaciones cronobiológicas (Eckel-Mahan, Patel y col. 2013). Ese sistema cronobiológico metabólico mantiene un estrecho vínculo con el mecanismo de reloj genómico de los eucariotas actuales (Rey, Valekunja y col. 2016).

El ritmo diario del genoma

El mecanismo cronobiológico circadiano más importante en los eucariotas es el que se basa en la repetición de un bucle de transcripción-traducción (que sintetiza proteínas a partir del ADN) diario. Está ampliamente distribuido, aunque se encuentran diferencias específicas entre los diferentes taxones y básicamente consiste en la expresión e inhibición de unos genes específicos y los productos de su transcripción y traducción (Reppert y Weaver 2002). Inicialmente se forma un heterodímero con las proteínas BMAL1 (Brain and Muscle Aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator-like protein 1) y CLOCK (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput). Ambas proteínas son activadoras de la transcripción y actúan a través de las secuencias reguladoras E-box de sus genes diana. Los genes que se transcriben son dos: el gen denominado Periodo (*PER1* y *PER2*) que se transcribe dando lugar a la proteína PER y el gen Criptocromo (*CRY1* y *CRY2*) que da lugar a la proteína CRY. La función de estas

proteínas es señalar el paso del tiempo dado que su síntesis sigue un ritmo diario. Además, las proteínas PER y CRY inhiben la actividad de BMAL1-CLOCK y, por lo tanto, su propia transcripción; formando parte de un sistema de autorregulación, en este caso por un bucle de retroalimentación negativo. La posterior fosforilación de esas proteínas conduce a su degradación, llevando a que los elementos activadores puedan iniciar un nuevo ciclo. El heterodímero CLOCK-BMAL1 no solo es el elemento iniciador del ciclo diario de transcripción, sino que también regula la transcripción de muchos genes controlados cronobiológicamente (CCGs), que a su vez influyen en una amplia gama de funciones fisiológicas externas al mecanismo oscilatorio. La acción de activadores e inhibidores no es simultánea por lo que los niveles de ARNm y las proteínas procedentes de la expresión de la mayoría de los genes circadianos oscilan con un período aproximado de 24 h. Adicionalmente, estas oscilaciones se ven reforzadas y estabilizadas por otros bucles secundarios como los que llevan a cabo dos proteínas que afectan a la expresión de Bmal1; por una parte REV-ERB α (reverse viral erythroblastosis oncogene products) que es inhibidor y por otra parte ROR α (retinoic acid receptor-related orphan receptors) que es activador (Albrecht 2012). Se han descrito nuevos bucles de retroalimentación estabilizadores como en el que interviene PGC-1 α (Li, Chen y col. 2011). En definitiva, las proteínas que proceden de la transcripción de genes cronobiológicos, así como de factores activadores o inhibidores del proceso de esas transcripciones del genoma son los engranajes del reloj genómico.

Estructura y organización del sistema cronobiológico circadiano de la célula y del organismo

La utilidad de un reloj viene determinada por la precisión con la que informa de la hora correcta, y ello depende, en gran medida, de su capacidad de ajuste (o “puesta en hora”). Lo mismo se puede decir de los osciladores biológicos celulares: necesitan sincronizarse. Las señales sincronizadoras cronobiológicas se conocen con el término alemán “*zeitgeber*”, que se puede traducir por “suministrador o dador de tiempo”. A pesar de su importancia en la cronobiología, la sincronización y mantenimiento del ritmo es uno de los aspectos más desconocidos de su funcionamiento (Hardin y Panda 2013). Ello es así, aunque se cuenta con mucha información sobre los bucles que dan lugar a las oscilaciones y de que se hayan propuesto modelos muy precisos (Stelling, Gilles y col. 2004). Además, no se conoce bien cómo ha sido el paso entre el sistema cronobiológico celular y el sistémico de los organismos pluricelulares. Se intuye complejidad, tanto en el camino que ha llevado de uno a otro, como en los mecanismos implicados. En concreto, un organismo pluricelular como es el ser humano posee un reloj cronobiológico con capacidad de sincronización mediante el ritmo preciso y constante de la variación entre luz solar y oscuridad nocturna, no puede haber una mejor señal de ajuste (Dudek y Meng 2014). Se han descrito otros factores que pueden influir o actuar como sincronizadores adicionales del reloj biológico, susceptibles todos

ellos de acusar desfases que repercutirán en la sincronía del organismo (Asher y Schibler 2011). El sistema cronobiológico sistémico corporal está constituido, principalmente, por un reloj principal situado en el sistema nervioso central: el núcleo supraquiasmático (NSQ), que está formado por unos miles de neuronas situadas estratégicamente en el hipotálamo en la proximidad de otras estructuras reguladoras del medio interno, con las que conjuntamente se coordinarán las oscilaciones de los relojes secundarios distribuidos por diferentes órganos (hígado, riñones, etc.) y tejidos como el adiposo (Pevet y Challet 2011).

El NSQ “sabe” que es de día o de noche gracias a la vía informativa que le llega procedente de la retina. En primer lugar, se genera una señal sincronizadora en las células ganglionares de la retina intrínsecamente fotosensibles (CGIF) que es debida a la variación de la luz ambiental. La melanopsina, un pigmento fotosensible a la luz azul, está presente en esas células CGIF y traduce la llegada de un fotón a una señal nerviosa (Lucas, Peirson y col. 2014) que se va a transmitir hasta el NSQ donde tienen lugar varios mecanismos de sincronización y “puesta en hora”. Desde allí se envía, a su vez, una señal de sincronía que se distribuye por diversos territorios (Hardeland 2017); entre ellos hay una vía muy relevante que baja hasta el ganglio cervical superior, próximo a la médula espinal, donde se establece una conexión sináptica, para después volver a subir al encéfalo por una vía multisináptica hasta llegar a su destino final: la glándula pineal (Pfeffer, Korf y col. 2017), donde se van a sintetizar, entre otras sustancias, la melatonina, molécula que actúa como la principal sincronizadora de los relojes u osciladores secundarios (Amaral y Cipolla-Neto 2018). La producción de melatonina, marcada por el periodo de oscuridad, está regulada tanto por el estado de actividad de la estimulación noradrenérgica, como por la exposición y ocultación a la luz solar (Dauchy, Wren-Dail y col. 2018). La ruta biosintética de la melatonina presenta dos pasos regulados que son de suma importancia. En primer lugar, la que se lleva a cabo por la enzima aril-alquilamina N-acetil-transferasa (AANAT), ya que actuaría como un interruptor del tipo encendido-apagado de toda la ruta biosintética. Un segundo punto de regulación viene determinado por la enzima hidroxil indol-O-metil-transferasa (HIOMT), que en este caso actuaría como un regulador de intensidad de la ruta de síntesis de la melatonina (Simonneaux y Ribelayga 2003). Adicionalmente, otro paso de la ruta está a cargo de la enzima serotonina-N-acetil-transferasa (SNAT), que a su vez es resultado de la expresión génica cíclica diaria, estableciéndose, por tanto, una regulación genómica circadiana. La señalización cronobiológica tiene múltiples interacciones con otros sistemas de señalización a varios niveles de los sistemas endocrino y nervioso, tarea en la que colaboran otros factores y señales (Challet 2015). Así, la melatonina, junto con el cortisol y determinadas señales del sistema nervioso autónomo, son vías señalizadoras internas por las que el reloj principal mantiene la sincronía con los osciladores periféricos y permite regular, adicionalmente, diversas funciones endocrinas, metabólicas y de comportamiento (Kumar Jha, Challet y col. 2015). Sin embargo, hay que señalar que el hecho de que una señal

sea rítmica no implica que tenga capacidad sincronizadora; sino quizá al contrario, como sucede con algunas hormonas que presentan oscilaciones diarias (GH, adiponectina, leptina, ghrelina, etc.) pero sin una función cronobiológica *per se* (Rollo 2010). La oscilación de la síntesis de las hormonas del eje adrenocorticotropo, como el cortisol, funcionan como una señal sincronizadora secundaria superpuestas a la sincronización que proporciona la melatonina circulante (Torres-Farfan, Richter y col. 2004). Se ha demostrado que el receptor de glucocorticoides, aunque está ampliamente distribuido por el organismo, está ausente en el NSQ (Teboul, Guillaumond y col. 2008), lo que refuerza la hipótesis de su papel secundario en las oscilaciones biológicas.

Ritmos con periodos diferentes al diario

Como se ha expuesto anteriormente, los organismos, además de un reloj que marca las horas del día, disponen de relojes con periodos inferiores y superiores al diario, que son de utilidad para desempeñar diversas funciones fisiológicas.

Los ritmos infradianos, tales como los mensuales, gobiernan funciones tan relevantes como el ciclo ovárico; también hay periodos de mayor duración como los estacionales, que marcan los ciclos reproductivos en determinadas especies animales, aunque parecen poco significativos para los humanos. Por otra parte, entre los ritmos de periodo inferior al día, se encuentran los ritmos rápidos y ultrarrápidos, que sirven de referencia temporal en muchos procesos del sistema nervioso (locomoción, localización de eventos, procesos mentales, que podrían denominarse metrónomos de alta frecuencia de oscilación (Buhusi y Meck 2005).

Relojes supradianos: base de tiempos (metrónomos biológicos)

Las bases de tiempos o metrónomos celulares son osciladores supradianos, es decir, que presentan oscilaciones rápidas o muy rápidas, con frecuencia superior al día, siendo indispensables en algunas funciones del sistema nervioso en las que intervienen como sistema referencial de eventos y de concordancia de tiempo. La supervivencia depende, en buena medida, de estar en el lugar correcto en el momento adecuado, por lo que se advierte la importancia de disponer de dichos sistemas (Hasselmo, Hay y col. 2002). Los sistemas de posicionamiento, como el geográfico GPS o el fisiológico, necesitan de un oscilador sumamente preciso con una alta frecuencia de oscilación. Por otra parte, la percepción del paso del tiempo y la detección de coincidencias temporales también son funciones vitales que desempeña el sistema nervioso gracias, nuevamente, a los sistemas referenciales. Se puede percibir la importancia y la subjetividad de la percepción del paso del tiempo en situaciones en las que el tiempo parece volar, ya sea por motivación psicológica, por incremento de actividad dopaminérgica o por acción activadora de la cafeína, entre otras causas; pero también el tiempo parece enlentecerse por diversas causas que pueden ser

también psicológicas o de otro tipo, como problemas de atención, depresión, etc. Un ejemplo de la elasticidad del tiempo percibido se constata en situaciones de peligro en los que el reloj interno se acelera para facilitar la reacción con lo que cualquier evento temporal se percibe más prolongado. Es decir, en un espacio de tiempo cronológico dado, nuestro reloj acelerado hace que la percepción del tiempo transcurrido sea mayor, dado que la frecuencia de la base de tiempos es nuestra referencia temporal, a mayor frecuencia mayor es la duración estimada de tiempo; los mecanismos de esa elasticidad del tiempo biológico son objeto de investigación (Motanis y Buonomano 2015).

Las oscilaciones de la base de tiempos se generan en estructuras neuronales (circuitos) del sistema nervioso mediante impulsos eléctricos neuronales coordinados de manera que las oscilaciones se mantienen en el tiempo (van Wassenhove 2016). Aunque su funcionamiento ofrece bastantes incógnitas, se conocen diversas funciones como su implicación en la ejecución de tareas automáticas de corta duración; también se sabe que el cuerpo estriado es fundamental en estos procesos (Meck, Penney y col. 2008) (Macar, Coull y col. 2006) (Gu, van Rijn y col. 2015), pero no únicamente, ya que intervienen también otras estructuras del sistema nervioso central como el cerebelo (Johansson, Hesslow y col. 2016) o el área motora suplementaria (Merchant y Yarrow 2016). Entre las sustancias que median en las sinapsis de estos circuitos destaca la dopamina, que también es esencial en las funciones del sistema motor y en los circuitos implicados en conductas de recompensa, placer y adicción. Además, la dopamina está relacionada con los ritmos circadianos y se ha comprobado la existencia de una desregulación temporal en pacientes que sufren Parkinson (Li, Wang y col. 2017). Hay otros neurotransmisores como la acetilcolina que también se relaciona con el tiempo percibido ejerciendo una función consolidadora de los recuerdos (Hasselmo 1999).

Relojes infradianos: osciladores con periodos superiores a un día (mensuales y estacionales)

Es muy conveniente conocer el paso de los días y de las estaciones del año de manera que se puedan anticipar los eventos que tienen un carácter periódico. Por ello, los osciladores infradianos -con frecuencia inferior al día- son muy relevantes en la fisiología de los organismos; aunque, no parece que todos los animales posean los mismos relojes y ni que tengan el mismo grado de funcionalidad. Así, mientras que los relojes mensuales han puesto de manifiesto su importancia funcional en los humanos en funciones como el ciclo ovárico, la importancia de los cronómetros estacionales parece afectar con mayor o menor intensidad a las diferentes especies. Por ejemplo, los ciclos reproductivos estacionales tienen una importancia de primer orden en algunos seres vivos, pero no parece ocurrir lo mismo con los humanos. Según algunos autores, la influencia de estos relojes sobre las pautas de comportamiento u otras funciones fisiológicas, sería bastante débil o nula (Watanabe, Yamamura y col. 2007) (Coomans, Ramkisoensing y col. 2015); otros autores

mantienen lo contrario (Bronson 2004) (Roenneberg 2004). En cualquier caso, los mecanismos y las consecuencias de su funcionamiento tienen todavía muchos interrogantes y son objeto de estudio en la actualidad (Golombek, Bussi y col. 2014) (Wood y Loudon 2014).

La regulación de los ritmos estacionales depende de dos capacidades: por una parte, de la plasticidad de ciertas redes neuronales del sistema nervioso y por otra de las modificaciones que se producen estacionalmente en la neurogénesis (Migaud, Butrille y col. 2015). Los ritmos estacionales se producen como respuesta a los cambios en el fotoperiodo, intensidad de la luz y la temperatura que tienen lugar en el día a día durante las estaciones, y son lo suficientemente significativos para marcar las diferencias entre las estaciones. Las principales estructuras del sistema nervioso implicadas en estos ritmos parecen ser la *pars tuberalis* hipofisaria y la glándula pineal. Ambas estructuras funcionan de manera coordinada y se ha identificado a *pars tuberalis*, más concretamente algunas de las células tirotropas “calendario”, como el lugar donde se expresan los receptores de melatonina MT1 y MT2; así, esta estructura actuaría como un transductor primario entre la información del fotoperiodo suministrado por la secreción de melatonina y una respuesta tiroidea (Wood y Loudon 2017), expresando los genes reloj CRY1 en el comienzo de la oscuridad y PER1 en el comienzo de la claridad (Dardente 2015). El intervalo entre la expresión de ambas proteínas sería el marcador del fotoperiodo, operando como un temporizador de coincidencia (Ikegami y Yoshimura 2012), lo que llevaría a modificar el ritmo de la expresión tiroidea hipotalámica e hipofisaria; sin descartar la posibilidad de que otras estructuras también participen (Wood, Christian y col. 2015) (Wood y Loudon 2017).

Coordinación y conexión entre los diferentes ritmos

Los mecanismos de los relojes u osciladores de los distintos ámbitos temporales, aun siendo de diversa naturaleza, se relacionan e influyen mutuamente, generando una respuesta óptima para atender a las necesidades funcionales y modificaciones del entorno. Así, el mecanismo del ritmo diario engarza con los de periodos de mayores amplitudes como el estacional; pero también con los circuitos neuronales del ritmo rápido, con un periodo muy pequeño.

La coordinación de los mecanismos responsables de los diferentes periodos: estacional, circadiano y base de tiempos es posible gracias a la existencia de elementos o factores que los conectan, como por ejemplo la melatonina, con un patrón diario y estacional de secreción, que en el ámbito circadiano opera en coordinación con el reloj principal -el NSQ- (Logan y McClung 2019); el NSQ, a su vez, controla la liberación de noradrenalina de las aferentes simpáticas pineales. Por otra parte, los periodos de alta frecuencia (segundos a minutos) y muy alta frecuencia (milisegundos) dependen, respectivamente, de circuitos cortico-estriatales y sensorial-motores (Buhusi y Meck 2005). El sistema circadiano podría

modular el funcionamiento de la base de tiempos a través de la regulación de los ritmos de la dopamina en el cerebro, ya que controla la neurotransmisión dopaminérgica a nivel presináptico y postsináptico de manera que, en las neuronas presinápticas, las proteínas del reloj circadiano generan ritmos diarios en la expresión de componentes relacionados con la neurotransmisión dopaminérgica, principalmente actuando como factores de transcripción mediante el enlace de elementos de las regiones promotoras (Golombek, Bussi y col. 2014).

Cuando se pierde el paso: desincronización de los ritmos

Todo este conjunto de mecanismos es susceptible de sufrir alteraciones que pueden repercutir sobre el estado de salud del organismo. Las posibilidades de que los ritmos se modifiquen por circunstancias ambientales parecen haberse incrementado significativamente a partir de la revolución industrial, cuando el medio ambiente resulta bastante diferente del que se considera “natural”, que ha acompañado a la humanidad desde siempre con pocas alteraciones, si es que las ha habido. Han cambiado muchos aspectos de la vida diaria, especialmente las que tienen que ver con la aparición de luz artificial, ya que permite “crear día en la noche”. No hay que olvidar que es, precisamente, la luz solar la señal que permite la sincronización. Si, además, durante el día se tiene una baja exposición a la luz natural y por la noche una luz de intensidad suficientemente potente y un espectro de longitud de onda determinado, los efectos podrían potenciarse (Smolensky, Sackett-Lundeen y col. 2015). Adicionalmente, otras causas parecen alterar o romper la cadencia ordenada de los ritmos como diversas actividades sociales nocturnas, no solo por la exposición a intensidades lumínicas superiores a lo que el organismo espera que sea la noche, sino también con actividades o comportamientos como ingestas a deshoras y actividades físicas más o menos intensas a horas en las que el ser humano, por su naturaleza diurna, normalmente estaría durmiendo. Como consecuencia podrían aparecer alteraciones del estado de salud y del bienestar, como por ejemplo fatiga, somnolencia, obesidad; y otras de marcado sentido patológico: daño oxidativo, cáncer, síndrome metabólico, trastornos del sueño, enfermedades cardiovasculares, alteraciones del humor, depresión, déficit cognitivo, envejecimiento, etc. (Bedrosian, Fonken y col. 2016).

4.- LA ENCRUCIJADA VITAL: TIEMPO, METABOLISMO Y GENOMA

Metabolismo y genoma son los elementos de los que están hechos los mecanismos del reloj biológico, pero no solo determinan su funcionamiento, sino que son susceptibles de recibir una retroalimentación de esos mismos ritmos durante el paso del tiempo. La relación entre tiempo, metabolismo y genoma es intensa y compleja. Se puede establecer una analogía con la relación entre espacio y tiempo de Minkowski, lo que sería un espacio existencial

biológico con tres componentes: la expresión genética, el metabolismo y el tiempo. El tiempo en el que el ser se desenvuelve está indisolublemente ligado a las modificaciones del metabolismo y ambas, simultáneamente, con las modificaciones de la expresión del genoma. Adicionalmente, la existencia del ser vivo está indisolublemente unida a la influencia de otros factores que provienen de las circunstancias internas y externas que le imponen unas condiciones que determinarán, en gran medida, el desarrollo de su identidad.

Metabolismo: la energía para el ser vivo

El metabolismo, una de las dimensiones vitales, se encarga de la gestión de la energía vital mediante un conjunto de mecanismos que están interconectados con otros mecanismos fundamentales para la supervivencia. La energía y su gestión por los mecanismos metabólicos son, en primer término, la explicación de la vida. Gracias al metabolismo el ser reta al inexorable aumento de la entropía universal, creando una disminución de la entropía localmente, obteniendo fuerza vital para mantenerse y para construir estructuras; ya que el metabolismo mantiene la llama de la vida mediante reacciones químicas, lo que se denomina catabolismo. El organismo necesita consumir combustible mediante la destrucción de moléculas (sustratos). Por otra parte, el metabolismo se ocupa de la construcción y mantenimiento de estructuras y sistemas físicos, lo que es conocido por anabolismo. En esa economía energética del metabolismo la principal moneda de cambio es el ATP (trifosfato de adenosina), que se acuña en la mitocondria, un orgánulo intracelular del que se ha probado su origen en organismos procariotas endosimbiontes que se integraron en otros procariotas dando lugar a una quimera que sería el origen de los eucariotas (Lazcano y Pereto 2017). Tanto se necesitan mutuamente célula y mitocondria que no pueden vivir independientemente.

Genoma: las instrucciones heredadas

En el saber popular, es en la sangre donde residen las características heredables. Es una idea interesante, aunque la realidad sea diferente, ya que son los genes los que almacenan, en todas las células del organismo, la información relevante que cualquier individuo mantiene como legado de sus antepasados. Entre otras informaciones se guarda el programa de funciones del ser vivo, algo así como el manual de instrucciones, que está dispuesto para verse a un idioma: el que habla de la construcción de proteínas en el interior de la célula. Las proteínas que son sintetizadas como consecuencia de la traducción del idioma genómico tienen diferentes funciones. Así, hay proteínas estructurales que constituyen parte del edificio orgánico de nuestro cuerpo; pero también hay proteínas que realizan diversas funciones: ya sea como agentes que facilitan la obtención y utilización de la energía (enzimas), o como mensajeros (hormonas). Otras proteínas, desempeñan funciones de defensa del organismo (anticuerpos). Por otra parte, el funcionamiento del oscilador transcripcional del reloj

diario se basa en la transcripción y traducción del genoma en proteínas (Bellet y Sassone-Corsi 2010). En definitiva, el genoma es el programa de actuación y supervivencia, pero además la expresión del genoma, tanto a corto como a largo plazo, está ligada al metabolismo y al reloj biológico genómico.

Conexiones entre metabolismo y genoma con el reloj biológico

En el funcionamiento del reloj circadiano intervienen una serie de proteínas como son CLOCK, BMAL, PERs, CRYs, y REV-ERBs, las cuales tienen a la vez funciones en la regulación del metabolismo, ya que son sensores de las modificaciones de los niveles de energía y de sustratos, así como del estado metabólico y del estado redox de la célula. Es decir, esas proteínas actuarían algo así como conectores entre el reloj biológico y el metabolismo. Adicionalmente, establecen conexiones con la expresión de genes específicos relacionados con diferentes áreas metabólicas como la homeostasis de lípidos y carbohidratos. En concreto BMAL1 y CLOCK regulan pasos limitantes en la biosíntesis de NAD⁺ (Nakahata, Kaluzova y col. 2008) (Ramsey, Yoshino y col. 2009), mientras que la afinidad de unión al ADN de *BMAL1* y *CLOCK* es controlado por la relación de NAD⁺/NADH intracelular (Rutter, Reick y col. 2001). Determinados metabolitos como NAD, AMP, y ATP actúan como señalizadores que también “informan” a esos mecanismos de regulación (Bass y Takahashi 2010). Hay otros elementos sintonizadores o conectores como SIRT (perteneciente a la familia de las desacetilasas dependientes de NAD), que se involucra en múltiples aspectos de la regulación del metabolismo, homeostasis mitocondrial y la supervivencia celular; además, regula la expresión genética del reloj y se ha relacionado su implicación con la longevidad (Asher, Gatfield y col. 2008) (Nakahata, Kaluzova y col. 2008). También NAMPT, que es una enzima limitante en la producción de NAD (un propulsor del metabolismo) y que está regulada por los genes del reloj celular (Ramsey, Yoshino y col. 2009). Además, está AMPK, que es un regulador de la disponibilidad energética (quinasas dependientes de AMP) y un sensor energético, sus dianas son *CRY* y *PER* e interviene en los procesos lisosómicos. No se puede olvidar a mTOR regulador del metabolismo proteico, involucrado en la longevidad; ni a PPAR, regulador del metabolismo lipídico (Balasubramanian, Howell y col. 2017). También hay que incluir en esta relación de componentes que interactúan con el metabolismo a elementos que forman parte de los bucles estabilizadores del reloj circadiano, como PGC-1 α que es un coactivador transcripcional inicialmente relacionado con biogénesis mitocondrial, β -oxidación de ácidos grasos, termogénesis de grasa parda, y gluconeogénesis hepática (Liang y Ward 2006). Recientemente se ha descrito su papel regulador directo en la expresión de genes del reloj *BMAL1* y *REV-ERB*, siendo indispensable para la función sincronizadora circadiana (Chang y Guarente 2013). También habría que añadir a estas piezas de conexión a los receptores hormonales nucleares (NHR), que forman parte de una familia de reguladores de la transcripción que son sensibles a diversas clases de

metabolitos (glúcidos, lípidos, etc.), y que desempeñan un papel importante en los procesos reguladores metabólicos; además, la expresión de los NHR está sometida a regulación cronobiológica, interaccionando a su vez con las proteínas del reloj, con lo que se produce una sincronización entre procesos metabólicos y cronología vital (Asher y Schibler 2011). Por otra parte, además de los conectores entre el metabolismo y el oscilador genómico que se han expuesto, hay también elementos que conectan el metabolismo y con el oscilador metabólico-redox. Finalmente habría también conexiones entre ambos osciladores: el metabólico-redox y el genómico-transcripcional, entre ellos destaca NRF2 (nuclear erythroid 2-related factor 2) (Wible, Ramanathan y col. 2018). Este factor, NRF2 se expresa cíclicamente y está relacionado con BMAL1/CLOCK (Wible, Ramanathan y col. 2018), regula la expresión de los genes que intervienen en la síntesis de glutatión (GSH) (Sato, McKercher y col. 2013); NRF2 y GSH están implicados en la susceptibilidad al daño oxidativo. También se ha comprobado su relación antagónica con la activación de los receptores de glucocorticoides (Alam, Okazaki y col. 2017), y con el estado nutricional, en especial en el ayuno (Hayes y Dinkova-Kostova 2014). También en estados de desequilibrio entre Nrf2 y NF- κ B (nuclear factor kapa B) se puede llegar a niveles elevados de estrés oxidativo y de inflamación (Ahmed, Luo y col. 2017).

5.- PERIODO VITAL Y ENVEJECIMIENTO

*Todos los relojes del organismo están condicionados por el periodo fundamental:
el periodo o duración de la vida*

Duración de la vida

El periodo de tiempo que abarca toda la vida es, en definitiva, el reloj biológico fundamental que marca la existencia del individuo. Este periplo vital viene determinado, en primer lugar, por las características de la especie, es un periodo de vida especie-específica. Ese periodo de tiempo teórico tomaría entidad práctica o material en lo que se denomina “esperanza de vida”, que es el periodo vital promedio para un grupo homogéneo de individuos en una época determinada. La esperanza de vida ha sufrido grandes modificaciones a lo largo de la historia de la humanidad; así, por ejemplo, desde principios del siglo XX se ha podido constatar que esta ha ido aumentando sustancialmente. Obviamente, cada individuo tiene su propio periodo de vida, su propio tiempo vital. Ambos espacios de tiempo, el individual y el promedio del grupo, se ven influidos por determinadas condiciones y circunstancias, algunas *a priori*, como es el sexo del individuo, y otras debidas a los avatares del vivir. También habría que considerar la duración máxima del periodo vital alcanzado por uno o varios miembros de esa especie en las condiciones ideales para ello; algo así como la mejor marca alcanzada (o récord) de

la especie. Para el ser humano, la Biblia lo expresa claramente desde hace siglos: “Entonces el SEÑOR dijo: No contendrá mi Espíritu para siempre con el hombre, porque ciertamente él es carne. Serán, pues, sus días ciento veinte años” (Génesis 6:3). Sorprende que recientemente se haya propuesto una cifra similar de 125 años (Dong, Milholland y col. 2016). Si consideramos los registros oficiales de nacimiento y fallecimiento la mejor marca de la que se tiene constancia oficial corresponde a Jeanne Calment que vivió 122 años y medio. No se puede ocultar el interés por conocer las posibilidades de rebasar cualquiera de los límites citados, incluso los específicos de la especie. Otra cuestión, discutible, consiste en si es conveniente o ético sobrepasar esos límites.

Vivir es morir día a día

Lucio Anneo Seneca

Hasta el fin... ¿Hasta el fin? Si para nosotros el fin no existe...

Enrique Jardiel Poncela, *Cuatro corazones con freno y marcha atrás*

¿Es el envejecimiento universal?

El paso del tiempo va dejando diversas huellas en el ser vivo que se perciben como modificaciones morfológicas y fisiológicas: el envejecimiento. Pero ¿es ineludible el envejecimiento? ¿Tiene algún significado o sentido que no somos capaces de ver? Hasta ahora se sabe que el envejecimiento es un proceso universal, o casi: la hidra, un curioso animal, no parece sufrir el envejecimiento, ni morir (Martinez 1998). En relación con ello, Boehm y colaboradores identificaron en 2012 al factor de transcripción *forkhead box O* (FoxO) como el factor crucial de su inmortalidad (Boehm, Khalturin y col. 2012). Las proteínas Fox son factores de transcripción proteicos polifacéticos, responsables del ajuste de la expresión espacial y temporal de un amplio rango de genes durante el desarrollo y en los tejidos adultos (Lam, Brosens y col. 2013). Sin embargo, no parece que la longevidad y su otra cara, el envejecimiento, dependan de un solo factor. A este respecto se ha señalado que en la propagación mediante reproducción sexual, en la que hay una línea germinal de células además del soma, conduce a que el soma sea prescindible (Kirkwood 2001); no se trataría de castigar al sexo *per se* sino que tendría que ver con la tasa metabólica, es decir la velocidad de producción de energía. Así una alta tasa metabólica repercutiría sobre la duración de la vida acortándola (Radzvilavicius, Hadjivasiliou y col. 2016). Nuevamente el metabolismo muestra su implicación directa en el tiempo de la vida. Las mitocondrias, las centrales energéticas de nuestras células y por lo tanto actores principales del metabolismo, se relacionan directamente con el envejecimiento. Se han indicado otros determinantes de la longevidad, como la capacidad de regulación de la síntesis proteica (Tavernarakis 2007), lo cual, nuevamente, está relacionado con el metabolismo. En la siguiente sección se profundiza en el estudio de los principales factores que intervienen en el envejecimiento.

7.- LOS RELOJES BIOLÓGICOS COMO TESTIGOS Y REGULADORES DEL TIEMPO EN EL SER VIVO

Presuntos implicados: metabolismo, genoma y sistema inmune

Se considera al envejecimiento como un proceso biológico complejo y multifactorial, que se manifiesta por un declive de las funciones fisiológicas a lo largo del tiempo. Es un proceso irreversible y que afecta a la esencia material del ser. Pruebas de la imposibilidad de vuelta atrás es, por ejemplo, la regeneración de la estrella de mar, que mantiene la edad del animal original, o lo que sucedió con la famosa oveja Dolly, primer clon de mamífero, que en el nacimiento ya manifestaba achaques típicos de un animal adulto, los de su madre. Diferenciar entre las marcas del envejecimiento y los signos patológicos o los efectos del envejecimiento, parece algo lejano todavía (Andersen-Ranberg, Jeune y col. 1999). Puede que no exista esa diferencia. En cualquier caso, ya sea como indicador o como diana terapéutica, sí parece necesario profundizar en el conocimiento de todo ello e intentar hallar soluciones eficaces que permitan mantener la vida en condiciones óptimas, tanto en duración como en el estado de salud (Martinez de Toda, Vida y col. 2017). Entre las diversas propuestas de indicadores fiables de la senectud se pueden destacar tres, que se relacionan con las tres dimensiones que previamente se han expuesto como principales condicionantes de los relojes biológicos: el tiempo vital, el metabolismo, la expresión genética. No estaría bien dibujado el panorama si no se añadiera un cuarto mosquetero que es el sistema inmune. Es decir, los factores que intervienen en el día a día son los que intervendrían en la duración de la vida. En cualquiera de los casos estos factores parecen actuar en buena medida mediante un brazo ejecutor que es la apoptosis, o muerte celular programada (Arguelles, Guerrero-Castilla y col. 2019).

Metabolismo y mitocondrias. Estrés oxidativo, y autofagia

La obtención de energía por parte de las mitocondrias lleva a la producción de los llamados “radicales libres”: moléculas que incorporan en su estructura oxígeno (también pueden contener nitrógeno) y que son altamente reactivas dada su capacidad para oxidar y transformar a otras moléculas (también pueden realizar el paso contrario, pero no es algo que se suele tener en cuenta). Estos radicales libres y sus productos desencadenan una serie de reacciones en cadena que propagan, aceleradamente, la producción de más radicales libres, esto a su vez produce daños en las estructuras celulares, lo que lleva a la degeneración y destrucción de la célula: es lo que se denomina estrés oxidativo; cuya causa se achaca a un mal funcionamiento de la mitocondria o a una deficiente defensa antioxidante celular. Desde los comienzos de la vida la célula ancestral, LUCA, ha tenido que lidiar con estas moléculas perniciosas desarrollando una serie de mecanismos de defensa frente a los agentes lesivos. Las lesiones inducidas por

el estrés oxidativo se manifiestan mediante la aparición de efectos degenerativos similares a los propios del envejecimiento. Ese paralelismo entre el estrés oxidativo y envejecimiento fue lo que llevó a la formulación de la teoría del envejecimiento por el estrés oxidativo; por la que el envejecimiento sería consecuencia directa de los daños asociados con ese estrés oxidativo. Se atribuye la paternidad de esta teoría a Denham Harman, que la formula en dos momentos: en primer lugar en 1956 cuando señala a los radicales libres como moléculas altamente reactivas y lesivas (Harman 1956); posteriormente, y para adecuarla a los datos experimentales, centró la atención más en el estrés oxidativo mitocondrial (Harman, Heidrick y col. 1977). La duración de la vida dependería entonces de la tasa de producción de radicales libres por la mitocondria (Sohal y Allen 1990) (Barja 2004). Desde sus comienzos hasta la actualidad esta teoría ha tenido defensores y detractores.

Tanto los productos resultantes de procesos como el estrés oxidativo, como los residuos que se originan por la actividad celular (digamos la basura) necesitan eliminarse del citoplasma celular, ya que en sí mismos tienen una potencial capacidad lesiva. La autofagia es el conjunto de mecanismos del metabolismo cuya función es la eliminación de los residuos intracelulares y es esencial para mantener el correcto funcionamiento de la célula (Saha, Panigrahi y col. 2018). Se ha relacionado la deficiencia o alteración de estos mecanismos con el envejecimiento, así como con el desarrollo de enfermedades degenerativas. La autofagia está sujeta a regulación circadiana y por ello puede verse afectada por alteraciones del ritmo (Jenwitheesuk, Nopparat y col. 2014). En la activación de la autofagia intervienen las vías de señalización de mTOR y de AMPK, aunque no son las únicas, ya que también se ve afectada, entre otros, por la hipoxia, el daño mitocondrial o determinadas señales del sistema inmune (Inoki, Kim y col. 2012). Yoshinori Ohsumi fue galardonado con el premio Nobel de Fisiología o Medicina de 2016 por sus estudios acerca de los mecanismos de la autofagia.

Genoma. Longitud de telómeros y epigenética

El genoma conserva un registro de la edad de la célula gracias a dos mecanismos: el primero, depende de las modificaciones epigenéticas, mientras que el segundo se debe al acortamiento de los telómeros; por ello se ha propuesto que los genes y la expresión genética son quizá los más verosímiles relojes de la edad del individuo (Vidacek, Nanic y col. 2017). Los telómeros son unas estructuras dinámicas que se sitúan en los extremos de cromosomas y que están sometidas a sucesivas modificaciones de su longitud. Están formados por secuencias no codificantes de nucleótidos, es decir, no contienen información para originar proteínas como resultado de la traducción genómica. Los telómeros se van acortando -perdiendo porciones sucesivamente- con cada división celular. El número de las posibles divisiones celulares viene limitado por el

acortamiento de los telómeros: en el momento en el que se alcanza el acortamiento máximo posible, la célula deja de dividirse y entra en un estado de senescencia. Por tanto, el agotamiento de las divisiones celulares es consecuencia de la modificación morfológica que supone el acortamiento de los telómeros; que también se puede producir debido a diversos procesos deletéreos y patológicos, como es estar sometido a los efectos del estrés oxidativo. En este contexto p53 sería el principal factor de transcripción que mediaría en una respuesta promotora del envejecimiento, cuya activación de transcripción vendría determinada por el acortamiento de los telómeros o daño al genoma (Sahin y DePinho 2012) (Vidacek, Nanic y col. 2017).

Por otra parte, los cambios epigenéticos son la manifestación de cómo las circunstancias particulares a las que se expone un ser vivo pueden alterar lo escrito en el genoma, silenciando o amplificando la expresión de esos genes. La epigenética es un conjunto de mecanismos que alteran la expresión del gen sin modificar la secuencia de ADN. Fue Conrad Hal Waddington quien en 1939 propuso estudiar los “mecanismos causales por los cuales los genes del genotipo logran su efecto fenotípico” (Waddington 1939). Ya que se pudo observar, desde los comienzos de los estudios genéticos, que el genoma por sí solo no explica cómo se expresa, de manera particular, el desarrollo del ser vivo, y se puede constatar fácilmente cuando se comparan gemelos univitelinos, que disponen de una secuencia de ADN idéntica, pero que con el tiempo, y dependiendo de las circunstancias que se produzcan en el entorno de esos individuos puede modificarse significativamente (Fraga, Ballestar y col. 2005).

Las modificaciones epigenéticas del genoma activan o desactivan genes mediante diversos mecanismos como son la adición o eliminación de moléculas en las histonas (proteínas asociadas al ADN) o modificación de las propias bases del ADN (acetilación o metilación de histonas, metilación del ADN); pero también se pueden llevar a cabo mediante otros mecanismos como la intervención de pequeños ARNs no codificantes (Zentner y Henikoff 2013). La maquinaria epigenética se pone en marcha o se detiene dependiendo de la acción promotora o inhibidora en diversas circunstancias como son la exposición a determinadas alteraciones del medio ambiente o de otros factores que actúan sobre el individuo; como son el estrés, la alimentación o la ingesta de sustancias tóxicas (alcohol, tabaco, químicos, etc.). Por tanto, las modificaciones epigenéticas conducen a la activación o silenciamiento de los genes, lo cual incrementa o disminuye la producción de proteínas reguladoras y modifica así determinadas funciones en la fisiología de la célula; ello puede, en ocasiones, conducir a la aparición de condiciones patológicas. Además, estas modificaciones del genoma, y esto es algo que pareció romper las bases de la herencia clásicas, pueden transmitirse por herencia de una célula a otra o incluso de padres a hijos (Xavier, Roman y col. 2019). Entre otras influencias de la epigenética sobre la vida, se conoce que el estado de metilación del genoma se relaciona directamente con la edad del

organismo (Johnson, Akman y col. 2012). Por ello, se ha propuesto el concepto de edad de metilación del DNA, al constatarse que esta modificación epigenética presenta una alta correlación y determinación ($R^2=0,92$) con la edad cronológica (Horvath 2013). El sentido de la correlación es inversa ya que la metilación de las bases disminuye con la edad; la hipometilación es, además de un marcador de la vejez, un índice tanto de la debilidad del organismo (Bellizzi, D'Aquila y col. 2012) como del incremento de la muerte celular (Skulachev 2004). También se relaciona con los procesos deletéreos asociados con el envejecimiento y con el incremento del estado oxidativo celular, ya que la oxidación del DNA inhibe su metilación (Weitzman, Turk y col. 1994). Por el contrario, parece que los antioxidantes facilitan la hipermetilación del DNA (Romanenko, Alessenko y col. 1995). La evidencia hallada en gemelos univitelinos en los que se ha comprobado un diferente grado de metilación genómico determinado por las alteraciones circunstanciales sufridas de manera diferencial entre ellos puede servir como epítome de la importancia de la epigenética en el envejecimiento (Fraga, Ballestar y col. 2005).

Sistema inmune

Se ha constatado la existencia de una estrecha relación de la funcionalidad del sistema inmune con el envejecimiento, de manera que la capacidad de respuesta del sistema inmune se va perdiendo gradualmente (Martinez de Toda, Vida y col. 2017). En concreto, se relaciona con el porcentaje de linfocitos T citotóxicos (CD8+), por lo que algunos autores lo consideran como las auténticas manecillas del reloj biológico (Pawelec 2017), aunque también se ha constatado inmunosenescencia en la población de CD4+ (Sato, Kato y col. 2017) (Fukushima, Minato y col. 2018).

8.- ¿ES POSIBLE MODIFICAR EL PERIODO VITAL? PROPUESTAS PASADAS Y POSIBILIDADES FUTURAS

Hay un denominador común -negativo- a todas las estrategias antienviejecimiento ensayadas hasta el momento, y es que aun habiendo ofrecido resultados óptimos en células o en determinados animales, no han llegado a ofrecer resultados consistentes en humanos; el premio por conseguir una solución es elevado (de Magalhaes, Stevens y col. 2017).

Teniendo en cuenta lo expuesto previamente parece razonable pensar que el primer objetivo de la batalla antienviejecimiento sería combatir adecuadamente el estrés oxidativo mitocondrial dado que sería el origen de los daños que llevarían al envejecimiento (Dhillon y Denu 2017). También habría que tener en cuenta la relación entre la tasa metabólica y el grado de actividad mitocondrial con el envejecimiento, ya que una menor actividad mitocondrial, produciría menor cantidad de radicales libres y un menor daño a la célula (Austad 2018). Además, la mitocondria parece estar implicada en

el envejecimiento a través de otros mecanismos, como su papel en la regulación de la inmunidad (Jang, Blum y col. 2018). Por tanto, no parece que sea solo el estrés oxidativo lo que hay que combatir; aunque, en la actualidad, la estrategia antienvjecimiento más ampliamente conocida, publicitada y comercializada es la administración de antioxidantes, casi siempre por decisión del individuo. Sin embargo, el aporte de suplementos dietéticos con un teórico poder antioxidante no ha conseguido resultados consistentes en humanos; por el contrario, un aporte excesivo de antioxidantes, aparte de no ser efectivo en la promoción de la salud y longevidad, incluso se ha propuesto que puede llegar a hacerlo negativamente (Halliwell 2012) (Lane 2003); lo cual no está en contradicción con el posible beneficio de una alimentación adecuada y del aporte de sustancias que además de ser antioxidantes ejerzan un efecto positivo mediante otros mecanismos (Sandoval-Acuna, Ferreira y col. 2014).

Otro aspecto del metabolismo relacionado con la longevidad tiene que ver con los mecanismos de autofagia y su declive con la edad; por ello, determinadas acciones como son la restricción energética en la dieta, la depleción de acetilcoenzima A, la acción de poliaminas y la activación de las sirtuínas parecen estimular la autofagia, probablemente mediada por un mecanismo en el que intervienen la acetilación de las histonas (Ma, Dong y col. 2015), lo que supone la involucración de los mecanismos epigénéticos. Las diferentes acciones promotoras de la autofagia pueden colaborar positivamente entre ellas (Ray, Bavaria y col. 2015) (Tajima, Murai y col. 2016).

Por otro lado, se proponen otros tratamientos relacionados con la intervención de la actividad de determinadas vías y señales del metabolismo celular y orgánico, como las que se llevan a cabo por elementos cruciales en el metabolismo como mTOR, SIRT1, FoxO o IGF-1 (Mazucanti, Cabral-Costa y col. 2015). En primer lugar, mediante tratamientos hormonales que pudieran ofrecer resultados beneficiosos en humanos con el propósito de reponer los niveles de hormonas a lo que se podría denominar como “niveles juveniles”. En este sentido, se ha comprobado que el envejecimiento está íntimamente ligado con los niveles de hormonas tanto peptídicas, como la hormona del crecimiento (GH) (Bartke 2019), así como esteroídicas, como la deshidroepiandrosterona (DHEA) (Nawata, Yanase y col. 2002). La disminución, de una manera edad-dependiente, de la actividad del eje insulina/IGF-1 (que afecta también a la GH), se ha relacionado con diversos deterioros como el cognitivo o el muscular (Bartke 2019) (Perrini, Laviola y col. 2010). Por ello, hace unos años se propuso la estrategia de la administración exógena de GH para obtener resultados positivos “rejuvenecedores”. Lamentablemente, también se pudo comprobar cómo el incremento de la actividad del citado eje, y consiguientemente los niveles de GH, llevaba a una disminución del periodo vital, mientras que, por el contrario, una disminución de la actividad del eje insulina/IGF-1 conducía a una mayor longevidad: había una correlación

entre activación del eje insulina/IGF-1 y duración de la vida (Rincon, Muzumdar y col. 2004, van Heemst 2010). Se sabe que la IGF-1 activa PI3K-Akt, que a su vez inactiva los factores de transcripción FoxO, que son proapoptóticos, y prolongadores de la vida (Rollo 2010). También la insulina incrementa la expresión del transportador de glutamato en astrocitos involucrando la cascada de señalización PI3K-Akt/mTOR (Jenwitheesuk, Nopparat y col. 2014) y consecuentemente el acortamiento del periodo vital. Recientemente se ha propuesto que la administración de melatonina en humanos parece incrementar los niveles de GH e IGF-1 circulantes, disminuyendo los de somatostatina (Nassar, Mulligan y col. 2007), sin llevar a sufrir los problemas de la administración exógena de GH. Sin embargo, aunque la pinealectomía elimina el ritmo secretor de GH, la administración posterior de melatonina no consigue restablecer dicho ritmo lo que sugiere que el mecanismo de secreción de GH no dependería únicamente de los niveles de melatonina. (Ostrowska, Kos-Kudla y col. 2001), No solo mediante el tratamiento hormonal se podría influir en esas rutas del metabolismo. Así, teniendo en cuenta que el fotoperiodo puede influir en el metabolismo se puede pensar en la existencia de una influencia recíproca, por lo que se ha propuesto manipular el balance energético mediante la manipulación del fotoperiodo y la administración de melatonina y cortisol (Corbalan-Tutau, Madrid y col. 2014).

Desde siempre se ha pretendido actuar sobre el envejecimiento mediante la administración de remedios o elixires. Se siguen buscando sustancias químicas tanto de origen natural como de síntesis, que puedan ofrecer óptimas perspectivas antienvjecimiento; desafortunadamente, en la mayoría de los casos solo parecen obtenerse resultados convincentes en la mosca *Drosophila* o en el gusano *Caenorhabditis elegans*, pero no en humanos. Entre las sustancias naturales se cuentan moléculas como la espermidina (Madeo, Eisenberg y col. 2018), carnosina (Hipkiss, Baye y col. 2016), glucosamina (Carames, Kiosses y col. 2013), coenzimaQ (Hernandez-Camacho, Bernier y col. 2018), o el ácido lipoico (Sadowska-Bartosz y Bartosz 2014); también de origen natural son los denominados fitoquímicos (Correa, Peralta y col. 2018) tales como licopeno, luteína, o laetril, además de sulforafanos, curcumina, resveratrol que incrementarían tanto SIRT1 como NFR2 (Corbi, Conti y col. 2016). Por otra parte, algunas de las sustancias de origen sintético con posibles efectos beneficiosos como agentes antienvjecimiento son la aspirina (Huang, Mu y col. 2017), metformina (Martin-Montalvo, Mercken y col. 2013), piracetam (Kurz, Ungerer y col. 2010), procaína (Perls 2013), selegilina (Knoll, Baghy y col. 2017), o la N-acetilcisteína (Polyak, Ostrovsky y col. 2018).

Otras terapias que aparecen especialmente prometedoras son aquellas cuyo objetivo es el genoma: las modificaciones genéticas permanentes obtenidas mediante la reprogramación celular son de máxima actualidad (Kane y Sinclair 2019), pero todavía

falta bastante camino que recorrer para llegar a soluciones tangibles en humanos. Por otro lado, se investigan las modificaciones genéticas temporales, como las que se conseguirían mediante la puesta en marcha de mecanismos epigenéticos antienvjecimiento (Morris, Willcox y col. 2019). Descifrar completamente el funcionamiento de la reprogramación celular y la epigenética, así como conocer las posibilidades de su manipulación podría aportar grandes avances en una medicina del futuro, más personalizada, segura y eficaz. En la actualidad se valora las posibilidades de que no solo se puedan conseguir efectos espectaculares con relación al envejecimiento sino también en el tratamiento de diversas patologías y alteraciones orgánicas por lo que se están desarrollando fármacos que sean capaces de modificar información epigenética con fines terapéuticos como, por ejemplo, en ciertos tipos de leucemias (Flotho, Sommer y col. 2018) (Flotho, Sommer y col. 2018) y otras enfermedades relacionadas con la sangre y sus células (Gallipoli y Huntly 2018).

Los caminos recorridos en la búsqueda de la eterna juventud han sido tortuosos y a veces es difícil separar hechos experimentales de charlatanería y de supersticiones. Por ejemplo, puede ser inquietante la coincidencia temporal entre la terapia llamada parabiosis heterocrónica (Bert 1864) y la proliferación de un tipo de crímenes atroces en la segunda mitad del siglo XIX, aunque no hay constancia de una relación directa entre ambas circunstancias. La técnica de parabiosis en sí no parece intrínsecamente perversa y procede de la constatación experimental de que cuando se conectan los sistemas circulatorios de dos animales, ambos comparten determinadas funcionalidades fisiológicas, como por ejemplo del estado inmune; también parece transmitir las características de un estado fisiológico juvenil a animales ancianos. En este caso una de las hipótesis que sustenta su eficacia se basa en la posibilidad de que algunos factores de diferenciación del crecimiento, que circulan por el torrente sanguíneo, sean los responsables de mantener al individuo en condiciones juveniles; factores que irían disminuyendo con la edad (Eggel y Wyss-Coray 2014) (Poggioli, Vujic y col. 2016); no se puede excluir la intervención en ese proceso del sistema inmune, que también se comparte parabióticamente. El procedimiento se ha sugerido, además, para otros problemas como los regenerativos, antitumorales, antiinflamatorios y antineurodegenerativos, entre otros (Conboy, Conboy y col. 2013).

En definitiva, si hay una poción mágica que otorgue la eterna juventud ni se ha encontrado ni parece que se vaya a hallar. Aunque se destacan comportamientos que llevarán a la más duradera vida con el mejor envejecimiento posible, no sin su dosis indispensable de esfuerzo: actividad física moderada, alimentación sana y equilibrada, y un entorno social y ambiental sano.

9.- BIBLIOGRAFÍA

- Ahmed, S. M., L. Luo, A. Namani, X. J. Wang y X. Tang (2017). "Nrf2 signaling pathway: Pivotal roles in inflammation." Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis **1863**(2): 585-597.
- Alam, M. M., K. Okazaki, L. T. T. Nguyen, N. Ota, H. Kitamura, S. Murakami, H. Shima, K. Igarashi, H. Sekine y H. Motohashi (2017). "Glucocorticoid receptor signaling represses the antioxidant response by inhibiting histone acetylation mediated by the transcriptional activator NRF2." Journal of Biological Chemistry **292**(18): 7519-7530.
- Albrecht, U. (2012). "Timing to perfection: the biology of central and peripheral circadian clocks." Neuron **74**(2): 246-260.
- Amaral, F. G. D. y J. Cipolla-Neto (2018). "A brief review about melatonin, a pineal hormone." Arch Endocrinol Metab **62**(4): 472-479.
- Andersen-Ranberg, K., B. Jeune, M. Hoier-Madsen y L. Hegedus (1999). "Thyroid function, morphology and prevalence of thyroid disease in a population-based study of Danish centenarians." J Am Geriatr Soc **47**(10): 1238-1243.
- Arguelles, S., A. Guerrero-Castilla, M. Cano, M. F. Muñoz y A. Ayala (2019). "Advantages and disadvantages of apoptosis in the aging process." Ann N Y Acad Sci **1443**(1): 20-33.
- Asher, G., D. Gatfield, M. Stratmann, H. Reinke, C. Dibner, F. Kreppel, R. Mostoslavsky, F. W. Alt y U. Schibler (2008). "SIRT1 regulates circadian clock gene expression through PER2 deacetylation." Cell **134**(2): 317-328.
- Asher, G. y U. Schibler (2011). "Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals." Cell Metab **13**(2): 125-137.
- Austad, S. N. (2018). "The Comparative Biology of Mitochondrial Function and the Rate of Aging." Integr Comp Biol **58**(3): 559-566.
- Balasubramanian, P., P. R. Howell y R. M. Anderson (2017). "Aging and Caloric Restriction Research: A Biological Perspective With Translational Potential." EBioMedicine **21**: 37-44.
- Barja, G. (2004). "Aging in vertebrates, and the effect of caloric restriction: a mitochondrial free radical production-DNA damage mechanism?" Biol Rev Camb Philos Soc **79**(2): 235-251.
- Bartke, A. (2019). "Growth Hormone and Aging: Updated Review." World J Mens Health **37**(1): 19-30.
- Bass, J. y J. S. Takahashi (2010). "Circadian integration of metabolism and energetics." Science **330**(6009): 1349-1354.

Bedrosian, T. A., L. K. Fonken y R. J. Nelson (2016). "Endocrine Effects of Circadian Disruption." Ann Rev Physiol **78**: 109-131.

Bellet, M. M. y P. Sassone-Corsi (2010). "Mammalian circadian clock and metabolism - the epigenetic link." J Cell Sci **123**(Pt 22): 3837-3848.

Bellizzi, D., P. D'Aquila, A. Montesanto, A. Corsonello, V. Mari, B. Mazzei, F. Lattanzio y G. Passarino (2012). "Global DNA methylation in old subjects is correlated with frailty." Age (Dordr) **34**(1): 169-179.

Bernard, C. (1865). Introduction à l'étude de la médecine expérimentale. Paris, Londres, Madrid, J.B. Baillière et fils ; Hippolyte Baillière ; C. Bailly-Baillière.

Bert, P. (1864). Expériences et considérations sur la greffe animale.

Boehm, A. M., K. Khalturin, F. Anton-Erxleben, G. Hemmrich, U. C. Klostermeier, J. A. Lopez-Quintero, H. H. Oberg, M. Puchert, P. Rosenstiel, J. Wittlieb y T. C. Bosch (2012). "FoxO is a critical regulator of stem cell maintenance in immortal Hydra." Proc Natl Acad Sci U S A **109**(48): 19697-19702.

Bronson, F. H. (2004). "Are humans seasonally photoperiodic?" J Biol Rhythms **19**(3): 180-192.

Buhusi, C. V. y W. H. Meck (2005). "What makes us tick? Functional and neural mechanisms of interval timing." Nature Reviews Neuroscience **6**(10): 755-765.

Cannon, W. B. (1932). The wisdom of the body. New York,, W.W. Norton & Company.

Carames, B., W. B. Kiosses, Y. Akasaki, D. C. Brinson, W. Eap, J. Koziol y M. K. Lotz (2013). "Glucosamine activates autophagy in vitro and in vivo." Arthritis Rheum **65**(7): 1843-1852.

Challet, E. (2015). "Keeping circadian time with hormones." Diabetes Obes Metab **17 Suppl 1**: 76-83.

Chang, H. C. y L. Guarente (2013). "SIRT1 mediates central circadian control in the SCN by a mechanism that decays with aging." Cell **153**(7): 1448-1460.

Chini, C. C. S., M. G. Tarrago y E. N. Chini (2017). "NAD and the aging process: Role in life, death and everything in between." Mol Cell Endocrinol **455**: 62-74.

Conboy, M. J., I. M. Conboy y T. A. Rando (2013). "Heterochronic parabiosis: historical perspective and methodological considerations for studies of aging and longevity." Aging Cell **12**(3): 525-530.

Coomans, C. P., A. Ramkisoensing y J. H. Meijer (2015). "The suprachiasmatic nuclei as a seasonal clock." Front Neuroendocrinol **37**: 29-42.

Corbi, G., V. Conti, S. Davinelli, G. Scapagnini, A. Filippelli y N. Ferrara (2016). "Dietary Phytochemicals in Neuroimmunoaging: A New Therapeutic Possibility for Humans?" Front Pharmacol **7**: 364.

Correa, R. C. G., R. M. Peralta, C. W. I. Haminiuk, G. M. Maciel, A. Bracht y I. Ferreira (2018). "New phytochemicals as potential human anti-aging compounds: Reality, promise, and challenges." Crit Rev Food Sci Nutr **58**(6): 942-957.

Dardente, H. (2015). "Circannual Biology: The Double Life of the Seasonal Thyrotroph." Curr Biol **25**(20): R988-991.

Dauchy, R. T., M. A. Wren-Dail, L. M. Dupepe, S. M. Hill, S. Xiang, M. Anbalagan, V. P. Belancio, E. M. Dauchy y D. E. Blask (2018). "Effect of Daytime Blue-enriched LED Light on the Nighttime Circadian Melatonin Inhibition of Hepatoma 7288CTC Warburg Effect and Progression." Comp Med **68**(4): 269-279.

de Magalhaes, J. P., M. Stevens y D. Thornton (2017). "The Business of Anti-Aging Science." Trends Biotechnol **35**(11): 1062-1073.

Dhillon, R. S. y J. M. Denu (2017). "Using comparative biology to understand how aging affects mitochondrial metabolism." Mol Cell Endocrinol **455**: 54-61.

Dong, X., B. Milholland y J. Vijg (2016). "Evidence for a limit to human lifespan." Nature **538**(7624): 257-259.

Dudek, M. y Q. J. Meng (2014). "Running on time: the role of circadian clocks in the musculoskeletal system." Biochem J **463**(1): 1-8.

Eckel-Mahan, K. L., V. R. Patel, S. de Mateo, R. Orozco-Solis, N. J. Ceglia, S. Sahar, S. A. Dilag-Penilla, K. A. Dyar, P. Baldi y P. Sassone-Corsi (2013). "Reprogramming of the circadian clock by nutritional challenge." Cell **155**(7): 1464-1478.

Edgar, R. S., E. W. Green, Y. Zhao, G. van Ooijen, M. Olmedo, X. Qin, Y. Xu, M. Pan, U. K. Valekunja, K. A. Feeney, E. S. Maywood, M. H. Hastings, N. S. Baliga, M. Merrow, A. J. Millar, C. H. Johnson, C. P. Kyriacou, J. S. O'Neill y A. B. Reddy (2012). "Peroxisomes are conserved markers of circadian rhythms." Nature **485**(7399): 459-464.

Eggel, A. y T. Wyss-Coray (2014). "A revival of parabiosis in biomedical research." Swiss Med Wkly **144**: w13914.

Flotho, C., S. Sommer y M. Lubbert (2018). "DNA-hypomethylating agents as epigenetic therapy before and after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in myelodysplastic syndromes and juvenile myelomonocytic leukemia." Semin Cancer Biol **51**: 68-79.

Fraga, M. F., E. Ballestar, M. F. Paz, S. Ropero, F. Setien, M. L. Ballestar, D. Heine-Suner, J. C. Cigudosa, M. Urioste, J. Benitez, M. Boix-Chornet, A. Sanchez-Aguilera, C. Ling, E. Carlsson, P. Poulsen, A. Vaag, Z. Stephan, T. D. Spector, Y. Z. Wu, C. Plass y M. Esteller (2005). "Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins." Proc Natl Acad Sci U S A **102**(30): 10604-10609.

Fukushima, Y., N. Minato y M. Hattori (2018). "The impact of senescence-associated T cells on immunosenescence and age-related disorders." Inflamm Regen **38**: 24.

Gallipoli, P. y B. J. P. Huntly (2018). "Novel epigenetic therapies in hematological malignancies: Current status and beyond." Semin Cancer Biol **51**: 198-210.

Garaulet, M. y J. A. Madrid (2009). "Chronobiology, genetics and metabolic syndrome." Curr Opin Lipidol **20**(2): 127-134.

Golombek, D. A., I. L. Bussi y P. V. Agostino (2014). "Minutes, days and years: molecular interactions among different scales of biological timing." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **369**(1637): 20120465.

Goudar, V. y D. V. Buonomano (2018). "Encoding sensory and motor patterns as time-invariant trajectories in recurrent neural networks." Elife **7**.

Gu, B. M., H. van Rijn y W. H. Meck (2015). "Oscillatory multiplexing of neural population codes for interval timing and working memory." Neurosci Biobehav Rev **48**: 160-185.

Halliwell, B. (2012). "Free radicals and antioxidants: updating a personal view." Nutr Rev **70**(5): 257-265.

Hardeland, R. (2017). "Melatonin and the pathologies of weakened or dysregulated circadian oscillators." J Pineal Res **62**(1).

Hardin, P. E. y S. Panda (2013). "Circadian timekeeping and output mechanisms in animals." Curr Opin Neurobiol **23**(5): 724-731.

Hardy, N. F. y D. V. Buonomano (2018). "Encoding Time in Feedforward Trajectories of a Recurrent Neural Network Model." Neural Comput **30**(2): 378-396.

Harman, D. (1956). "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry." J Gerontol **11**(3): 298-300.

Harman, D., M. L. Heidrick y D. E. Eddy (1977). "Free radical theory of aging: effect of free-radical-reaction inhibitors on the immune response." J Am Geriatr Soc **25**(9): 400-407.

Hasselmo, M. E. (1999). "Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation." Trends Cogn Sci **3**(9): 351-359.

Hasselmo, M. E., J. Hay, M. Ilyn y A. Gorchetchnikov (2002). "Neuromodulation, theta rhythm and rat spatial navigation." Neural Netw **15**(4-6): 689-707.

Hayes, J. D. y A. T. Dinkova-Kostova (2014). "The Nrf2 regulatory network provides an interface between redox and intermediary metabolism." Trends Biochem Sci **39**(4): 199-218.

Hernandez-Camacho, J. D., M. Bernier, G. Lopez-Lluch y P. Navas (2018). "Coenzyme Q10 Supplementation in Aging and Disease." Front Physiol **9**: 44.

Hipkiss, A. R., E. Baye y B. de Courten (2016). "Carnosine and the processes of ageing." Maturitas **93**: 28-33.

Horvath, S. (2013). "DNA methylation age of human tissues and cell types." Genome Biol **14**(10): R115.

Huang, X. B., X. H. Mu, Q. L. Wan, X. M. He, G. S. Wu y H. R. Luo (2017). "Aspirin increases metabolism through germline signalling to extend the lifespan of *Caenorhabditis elegans*." PLoS One **12**(9): e0184027.

Ikegami, K. y T. Yoshimura (2012). "Circadian clocks and the measurement of daylength in seasonal reproduction." Mol Cell Endocrinol **349**(1): 76-81.

Inoki, K., J. Kim y K. L. Guan (2012). "AMPK and mTOR in cellular energy homeostasis and drug targets." Annu Rev Pharmacol Toxicol **52**: 381-400.

Jang, J. Y., A. Blum, J. Liu y T. Finkel (2018). "The role of mitochondria in aging." J Clin Invest **128**(9): 3662-3670.

Jenwitheesuk, A., C. Nopparat, S. Mukda, P. Wongchitrat y P. Govitrapong (2014). "Melatonin regulates aging and neurodegeneration through energy metabolism, epigenetics, autophagy and circadian rhythm pathways." Int J Mol Sci **15**(9): 16848-16884.

Johansson, F., G. Hesslow y J. F. Medina (2016). "Mechanisms for motor timing in the cerebellar cortex." Curr Opin Behav Sci **8**: 53-59.

Johnson, A. A., K. Akman, S. R. Calimport, D. Wuttke, A. Stolzing y J. P. de Magalhaes (2012). "The role of DNA methylation in aging, rejuvenation, and age-related disease." Rejuvenation Res **15**(5): 483-494.

Kane, A. E. y D. A. Sinclair (2019). "Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential." Crit Rev Biochem Mol Biol **54**(1): 61-83.

- Kirkwood, T. B. (2001). "Sex and ageing." Exp Gerontol **36**(3): 413-418.
- Knoll, J., K. Baghy, S. Eckhardt, P. Ferdinandy, M. Garami, L. G. Harsing, Jr., P. Hauser, Z. Mervai, T. Pocza, Z. Schaff, D. Schuler y I. Miklya (2017). "A longevity study with enhancer substances (selegiline, BPAP) detected an unknown tumor-manifestation-suppressing regulation in rat brain." Life Sci **182**: 57-64.
- Kumar Jha, P., E. Challet y A. Kalsbeek (2015). "Circadian rhythms in glucose and lipid metabolism in nocturnal and diurnal mammals." Mol Cell Endocrinol **418 Pt 1**: 74-88.
- Kurz, C., I. Ungerer, U. Lipka, S. Kirr, T. Schutt, A. Eckert, K. Leuner y W. E. Muller (2010). "The metabolic enhancer piracetam ameliorates the impairment of mitochondrial function and neurite outgrowth induced by beta-amyloid peptide." Br J Pharmacol **160**(2): 246-257.
- Lam, E. W., J. J. Brosens, A. R. Gomes y C. Y. Koo (2013). "Forkhead box proteins: tuning forks for transcriptional harmony." Nat Rev Cancer **13**(7): 482-495.
- Lane, N. (2003). "A unifying view of ageing and disease: the double-agent theory." Journal of Theoretical Biology **225**(4): 531-540.
- Lane, N., J. F. Allen y W. Martin (2010). "How did LUCA make a living? Chemiosmosis in the origin of life." Bioessays **32**(4): 271-280.
- Lazcano, A. y J. Pereto (2017). "On the origin of mitosing cells: A historical appraisal of Lynn Margulis endosymbiotic theory." J Theor Biol **434**: 80-87.
- Li, S., X. W. Chen, L. Yu, A. R. Saltiel y J. D. Lin (2011). "Circadian metabolic regulation through crosstalk between casein kinase 1delta and transcriptional coactivator PGC-1alpha." Mol Endocrinol **25**(12): 2084-2093.
- Li, S., Y. Wang, F. Wang, L. F. Hu y C. F. Liu (2017). "A New Perspective for Parkinson's Disease: Circadian Rhythm." Neurosci Bull **33**(1): 62-72.
- Liang, H. y W. F. Ward (2006). "PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism." Adv Physiol Educ **30**(4): 145-151.
- Logan, R. W. y C. A. McClung (2019). "Rhythms of life: circadian disruption and brain disorders across the lifespan." Nature Reviews Neuroscience **20**(1): 49-65.
- Lucas, R. J., S. N. Peirson, D. M. Berson, T. M. Brown, H. M. Cooper, C. A. Czeisler, M. G. Figueiro, P. D. Gamlin, S. W. Lockley, J. B. O'Hagan, L. L. Price, I. Provencio, D. J. Skene y G. C. Brainard (2014). "Measuring and using light in the melanopsin age." Trends Neurosci **37**(1): 1-9.

Ma, D., S. Li, M. M. Molusky y J. D. Lin (2012). "Circadian autophagy rhythm: a link between clock and metabolism?" Trends Endocrinol Metab **23**(7): 319-325.

Ma, L., W. Dong, R. Wang, Y. Li, B. Xu, J. Zhang, Z. Zhao y Y. Wang (2015). "Effect of caloric restriction on the SIRT1/mTOR signaling pathways in senile mice." Brain Res Bull **116**: 67-72.

Macar, F., J. Coull y F. Vidal (2006). "The supplementary motor area in motor and perceptual time processing: fMRI studies." Cogn Process **7**(2): 89-94.

Madeo, F., T. Eisenberg, F. Pietrocola y G. Kroemer (2018). "Spermidine in health and disease." Science **359**(6374).

Martin-Montalvo, A., E. M. Mercken, S. J. Mitchell, H. H. Palacios, P. L. Mote, M. Scheibye-Knudsen, A. P. Gomes, T. M. Ward, R. K. Minor, M. J. Blouin, M. Schwab, M. Pollak, Y. Zhang, Y. Yu, K. G. Becker, V. A. Bohr, D. K. Ingram, D. A. Sinclair, N. S. Wolf, S. R. Spindler, M. Bernier y R. de Cabo (2013). "Metformin improves healthspan and lifespan in mice." Nat Commun **4**: 2192.

Martinez, D. E. (1998). "Mortality patterns suggest lack of senescence in hydra." Exp Gerontol **33**(3): 217-225.

Martinez de Toda, I., C. Vida y M. De la Fuente (2017). "An Appropriate Modulation of Lymphoproliferative Response and Cytokine Release as Possible Contributors to Longevity." Int J Mol Sci **18**(7).

Mazucanti, C. H., J. V. Cabral-Costa, A. R. Vasconcelos, D. Z. Andreotti, C. Scavone y E. M. Kawamoto (2015). "Longevity Pathways (mTOR, SIRT, Insulin/IGF-1) as Key Modulatory Targets on Aging and Neurodegeneration." Curr Top Med Chem **15**(21): 2116-2138.

Meck, W. H., T. B. Penney y V. Pouthas (2008). "Cortico-striatal representation of time in animals and humans." Curr Opin Neurobiol **18**(2): 145-152.

Merchant, H. y K. Yarrow (2016). "How the motor system both encodes and influences our sense of time." Current Opinion in Behavioral Sciences **8**: 22-27.

Migaud, M., L. Butrille y M. Batailler (2015). "Seasonal regulation of structural plasticity and neurogenesis in the adult mammalian brain: focus on the sheep hypothalamus." Front Neuroendocrinol **37**: 146-157.

Milev, N. B. y A. B. Reddy (2015). "Circadian redox oscillations and metabolism." Trends Endocrinol Metab **26**(8): 430-437.

Moore-Ede, M. C. (1986). "Physiology of the circadian timing system: predictive versus reactive homeostasis." Am J Physiol **250**(5 Pt 2): R737-752.

- Morris, B. J., B. J. Willcox y T. A. Donlon (2019). "Genetic and epigenetic regulation of human aging and longevity." Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis **1865**(7): 1718-1744.
- Motanis, H. y D. V. Buonomano (2015). "Neural coding: time contraction and dilation in the striatum." Curr Biol **25**(9): R374-376.
- Naimi, M., C. Arous y E. Van Obberghen (2010). "Energetic cell sensors: a key to metabolic homeostasis." Trends Endocrinol Metab **21**(2): 75-82.
- Nakahata, Y., M. Kaluzova, B. Grimaldi, S. Sahar, J. Hirayama, D. Chen, L. P. Guarente y P. Sassone-Corsi (2008). "The NAD⁺-dependent deacetylase SIRT1 modulates CLOCK-mediated chromatin remodeling and circadian control." Cell **134**(2): 329-340.
- Nassar, E., C. Mulligan, L. Taylor, C. Kerksick, M. Galbreath, M. Greenwood, R. Kreider y D. S. Willoughby (2007). "Effects of a single dose of N-Acetyl-5-methoxytryptamine (Melatonin) and resistance exercise on the growth hormone/IGF-1 axis in young males and females." J Int Soc Sports Nutr **4**: 14.
- Nawata, H., T. Yanase, K. Goto, T. Okabe y K. Ashida (2002). "Mechanism of action of anti-aging DHEA-S and the replacement of DHEA-S." Mech Ageing Dev **123**(8): 1101-1106.
- Orozco-Solis, R. y P. Sassone-Corsi (2014). "Epigenetic control and the circadian clock: linking metabolism to neuronal responses." Neuroscience **264**: 76-87.
- Ostrowska, Z., B. Kos-Kudla, E. Swietochowska, B. Marek, D. Kajdaniuk y N. Ciesielska-Kopacz (2001). "Influence of pinealectomy and long-term melatonin administration on GH-IGF-I axis function in male rats." Neuro Endocrinol Lett **22**(4): 255-262.
- Pawelec, G. (2017). "Does the human immune system ever really become "senescent"?" F1000Res **6**.
- Perls, T. (2013). "The reappearance of procaine hydrochloride (Gerovital H3) for antiaging." J Am Geriatr Soc **61**(6): 1024-1025.
- Perrini, S., L. Laviola, M. C. Carreira, A. Cignarelli, A. Natalicchio y F. Giorgino (2010). "The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis." J Endocrinol **205**(3): 201-210.
- Pevet, P. y E. Challet (2011). "Melatonin: both master clock output and internal time-giver in the circadian clocks network." J Physiol Paris **105**(4-6): 170-182.
- Pfeffer, M., H. W. Korf y H. Wicht (2017). "Synchronizing effects of melatonin on diurnal and circadian rhythms." Gen Comp Endocrinol.

- Poggioli, T., A. Vujic, P. Yang, C. Macias-Trevino, A. Uygur, F. S. Loffredo, J. R. Pancoast, M. Cho, J. Goldstein, R. M. Tandias, E. Gonzalez, R. G. Walker, T. B. Thompson, A. J. Wagers, Y. W. Fong y R. T. Lee (2016). "Circulating Growth Differentiation Factor 11/8 Levels Decline With Age." *Circ Res* **118**(1): 29-37.
- Polyak, E., J. Ostrovsky, M. Peng, S. D. Dingley, M. Tsukikawa, Y. J. Kwon, S. E. McCormack, M. Bennett, R. Xiao, C. Seiler, Z. Zhang y M. J. Falk (2018). "N-acetylcysteine and vitamin E rescue animal longevity and cellular oxidative stress in pre-clinical models of mitochondrial complex I disease." *Mol Genet Metab* **123**(4): 449-462.
- Radzvilavicius, A. L., Z. Hadjivasiliou, A. Pomiankowski y N. Lane (2016). "Selection for Mitochondrial Quality Drives Evolution of the Germline." *PLoS Biol* **14**(12): e2000410.
- Ramsey, K. M., J. Yoshino, C. S. Brace, D. Abrassart, Y. Kobayashi, B. Marcheva, H. K. Hong, J. L. Chong, E. D. Buhr, C. Lee, J. S. Takahashi, S. Imai y J. Bass (2009). "Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis." *Science* **324**(5927): 651-654.
- Ray, R. M., M. Bavaria y L. R. Johnson (2015). "Interaction of polyamines and mTOR signaling in the synthesis of antizyme (AZ)." *Cell Signal* **27**(9): 1850-1859.
- Reppert, S. M. y D. R. Weaver (2002). "Coordination of circadian timing in mammals." *Nature* **418**(6901): 935-941.
- Rey, G. y A. B. Reddy (2013). "Connecting cellular metabolism to circadian clocks." *Trends Cell Biol* **23**(5): 234-241.
- Rey, G. y A. B. Reddy (2015). "Interplay between cellular redox oscillations and circadian clocks." *Diabetes Obes Metab* **17 Suppl 1**: 55-64.
- Rey, G., U. K. Valekunja, K. A. Feeney, L. Wulund, N. B. Milev, A. Stangherlin, L. Ansel-Bollepalli, V. Velagapudi, J. S. O'Neill y A. B. Reddy (2016). "The Pentose Phosphate Pathway Regulates the Circadian Clock." *Cell Metab* **24**(3): 462-473.
- Rhee, S. G. y I. S. Kil (2017). "Multiple Functions and Regulation of Mammalian Peroxiredoxins." *Annu Rev Biochem* **86**: 749-775.
- Rincon, M., R. Muzumdar, G. Atzmon y N. Barzilai (2004). "The paradox of the insulin/IGF-1 signaling pathway in longevity." *Mech Ageing Dev* **125**(6): 397-403.
- Roenneberg, T. (2004). "The decline in human seasonality." *J Biol Rhythms* **19**(3): 193-195; discussion 196-197.
- Rollo, C. D. (2010). "Aging and the Mammalian regulatory triumvirate." *Aging Dis* **1**(2): 105-138.

- Romanenko, E. B., A. V. Alessenko y B. F. Vanyushin (1995). "Effect of sphingomyelin and antioxidants on the in vitro and in vivo DNA methylation." Biochem Mol Biol Int **35**(1): 87-94.
- Rutter, J., M. Reick, L. C. Wu y S. L. McKnight (2001). "Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors." Science **293**(5529): 510-514.
- Sadowska-Bartosz, I. y G. Bartosz (2014). "Effect of antioxidants supplementation on aging and longevity." Biomed Res Int **2014**: 404680.
- Saha, S., D. P. Panigrahi, S. Patil y S. K. Bhutia (2018). "Autophagy in health and disease: A comprehensive review." Biomed Pharmacother **104**: 485-495.
- Sahin, E. y R. A. DePinho (2012). "Axis of ageing: telomeres, p53 and mitochondria." Nat Rev Mol Cell Biol **13**(6): 397-404.
- Sandoval-Acuna, C., J. Ferreira y H. Speisky (2014). "Polyphenols and mitochondria: an update on their increasingly emerging ROS-scavenging independent actions." Arch Biochem Biophys **559**: 75-90.
- Sapolsky, R. M., L. M. Romero y A. U. Munck (2000). "How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions." Endocr Rev **21**(1): 55-89.
- Sato, K., A. Kato, M. Sekai, Y. Hamazaki y N. Minato (2017). "Physiologic Thymic Involution Underlies Age-Dependent Accumulation of Senescence-Associated CD4(+) T Cells." J Immunol **199**(1): 138-148.
- Satoh, T., S. R. McKercher y S. A. Lipton (2013). "Nrf2/ARE-mediated antioxidant actions of pro-electrophilic drugs." Free Radic Biol Med **65**: 645-657.
- Simonneaux, V. y C. Ribelayga (2003). "Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters." Pharmacol Rev **55**(2): 325-395.
- Skulachev, V. P. (2004). "Mitochondria, reactive oxygen species and longevity: some lessons from the Barja group." Aging Cell **3**(1): 17-19.
- Smolensky, M. H., L. L. Sackett-Lundeen y F. Portaluppi (2015). "Nocturnal light pollution and underexposure to daytime sunlight: Complementary mechanisms of circadian disruption and related diseases." Chronobiol Int **32**(8): 1029-1048.
- Sohal, R. S. y R. G. Allen (1990). "Oxidative stress as a causal factor in differentiation and aging: a unifying hypothesis." Exp Gerontol **25**(6): 499-522.

Stelling, J., E. D. Gilles y F. J. Doyle, 3rd (2004). "Robustness properties of circadian clock architectures." Proc Natl Acad Sci U S A **101**(36): 13210-13215.

Tajima, A., N. Murai, Y. Murakami, T. Iwamoto, T. Migita y S. Matsufuji (2016). "Polyamine regulating protein antizyme binds to ATP citrate lyase to accelerate acetyl-CoA production in cancer cells." Biochem Biophys Res Commun **471**(4): 646-651.

Tavernarakis, N. (2007). "Protein synthesis and aging: eIF4E and the soma vs. germline distinction." Cell Cycle **6**(10): 1168-1171.

Teboul, M., F. Guillaumond, A. Grechez-Cassiau y F. Delaunay (2008). "The nuclear hormone receptor family round the clock." Mol Endocrinol **22**(12): 2573-2582.

Torres-Farfan, C., H. G. Richter, A. M. Germain, G. J. Valenzuela, C. Campino, P. Rojas-Garcia, M. L. Forcelledo, F. Torrealba y M. Seron-Ferre (2004). "Maternal melatonin selectively inhibits cortisol production in the primate fetal adrenal gland." J Physiol **554**(Pt 3): 841-856.

van Heemst, D. (2010). "Insulin, IGF-1 and longevity." Aging Dis **1**(2): 147-157.

van Wassenhove, V. (2016). "Temporal cognition and neural oscillations." Current Opinion in Behavioral Sciences **8**: 124-130.

Vidacek, N. S., L. Nanic, S. Ravlic, M. Sopta, M. Geric, G. Gajski, V. Garaj-Vrhovac y I. Rubelj (2017). "Telomeres, Nutrition, and Longevity: Can We Really Navigate Our Aging?" J Gerontol A Biol Sci Med Sci.

Waddington, C. H. (1939). "Preliminary Notes on the Development of the Wings in Normal and Mutant Strains of *Drosophila*." Proc Natl Acad Sci U S A **25**(7): 299-307.

Watanabe, T., T. Yamamura, M. Watanabe, S. Yasuo, N. Nakao, A. Dawson, S. Ebihara y T. Yoshimura (2007). "Hypothalamic expression of thyroid hormone-activating and -inactivating enzyme genes in relation to photorefractoriness in birds and mammals." Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol **292**(1): R568-572.

Weitzman, S. A., P. W. Turk, D. H. Milkowski y K. Kozlowski (1994). "Free radical adducts induce alterations in DNA cytosine methylation." Proc Natl Acad Sci U S A **91**(4): 1261-1264.

Wible, R. S., C. Ramanathan, C. H. Sutter, K. M. Olesen, T. W. Kensler, A. C. Liu y T. R. Sutter (2018). "NRF2 regulates core and stabilizing circadian clock loops, coupling redox and timekeeping in *Mus musculus*." Elife **7**.

Wood, S. y A. Loudon (2014). "Clocks for all seasons: unwinding the roles and mechanisms of circadian and interval timers in the hypothalamus and pituitary." J Endocrinol **222**(2): R39-59.

Wood, S. y A. Loudon (2017). "The pars tuberalis: the site of the circannual clock in mammals?" Gen Comp Endocrinol.

Wood, S. H., H. C. Christian, K. Miedzinska, B. R. Saer, M. Johnson, B. Paton, L. Yu, J. McNeilly, J. R. Davis, A. S. McNeilly, D. W. Burt y A. S. Loudon (2015). "Binary Switching of Calendar Cells in the Pituitary Defines the Phase of the Circannual Cycle in Mammals." Curr Biol **25**(20): 2651-2662.

Xavier, M. J., S. D. Roman, R. J. Aitken y B. Nixon (2019). "Transgenerational inheritance: how impacts to the epigenetic and genetic information of parents affect offspring health." Human Reproduction Update **25**(5): 519-541.

Yaku, K., K. Okabe y T. Nakagawa (2018). "NAD metabolism: Implications in aging and longevity." Ageing Res Rev **47**: 1-17.

Yang, Y. y A. A. Sauve (2016). "NAD(+) metabolism: Bioenergetics, signaling and manipulation for therapy." Biochim Biophys Acta **1864**(12): 1787-1800.

Zentner, G. E. y S. Henikoff (2013). "Regulation of nucleosome dynamics by histone modifications." Nat Struct Mol Biol **20**(3): 259-266.