

*Señor Presidente,
Señoras y Señores Académicos,
Señoras y Señores*

Es un honor muy singular para un Académico de la Real Academia de Doctores de España, ocupar esta tribuna para pronunciar el Discurso protocolario en la Solemne Sesión Inaugural del Curso. Por esa razón, hoy me siento profundamente agradecida al Presidente y a la Junta de Gobierno de esta Real Corporación y a la Sección de Farmacia y a su Presidenta, por haberme propuesto y encargado esta noble misión. Es una responsabilidad que he aceptado con inmensa satisfacción y espero estar a la altura que este acto Académico merece.

Hace casi veinte años, en Noviembre de 1989, ingresé como Académica de Número en esta Real Academia. Desde entonces he intervenido repetidas veces en las Actividades Académicas y precisamente hace un año celebramos una Mesa Redonda sobre «Envejecimiento», tema de gran complejidad, que fue tratado desde variados puntos de vista por los Doctores Académicos que intervinieron: Pedro García Barreno con *Gerontología y Geriatria*; Mónica de la Fuente del Rey con *El sistema inmune en el envejecimiento*; y la que les habla, con *Restricción calórica y longevidad*. Tanto en esta ocasión como en otras, he tomado parte en conferencias y publicaciones sobre este tema en el Instituto

de España y en la Real Academia Nacional de Farmacia. Además, el envejecimiento ha sido uno de los objetivos de mis investigaciones al estudiar, durante muchos años, el efecto de la edad sobre el metabolismo hepático de fármacos en animales de laboratorio.

Con estos antecedentes y una vez consultada la bibliografía más reciente, hoy me dirijo a ustedes con un tema apasionante y siempre de máxima actualidad: LA CIENCIA DE ENVEJECER CON SALUD

Las revistas científicas de más prestigio publican regularmente trabajos con un mensaje recurrente: el envejecimiento es un proceso modificable, que se puede retrasar y evitar mediante intervenciones genéticas, farmacológicas o nutricionales. Es por tanto cuestión de tiempo averiguar la receta perfecta para conseguir una longevidad en buenas condiciones de salud. El futuro próximo nos ha de brindar nuevas formas de terapia regenerativa y preventiva, que han de proporcionar mayor calidad de vida a la población de edad avanzada. El reto para ese futuro será manipular estos mecanismos para conseguir una vida larga y saludable.

Introducción

El envejecimiento es un proceso fisiológico complejo, progresivo e irreversible, gobernado por factores genéticos y ambientales, que acompaña a los seres vivos desde el momento del nacimiento y trae consigo un mayor riesgo de sufrir enfermedades y una menor integración social del individuo. Las numerosas teorías sobre el envejecimiento tienen su origen en el estudio de los cambios que se suceden o de los cambios que se acumulan a lo largo de la vida. Entre ellas, la que ha alcanzado más aceptación por haber sido ampliamente comprobada, fue la propuesta por Denhan Harman en 1956 y es la que responsabiliza a las especies reactivas de oxígeno (ROS) de las alteraciones macromoleculares oxidativas asociadas a la edad. Esta teoría se dirigió, posteriormente, hacia la generación de ROS por la mitocondria [1].

Por tanto, el envejecimiento se caracteriza por un progresivo descenso en la función de células, tejidos y órganos, asociado al daño oxidativo a las macromoléculas, disfunción mitocondrial, alteraciones endocrinas e inestabilidad genómica. La capacidad de regeneración tisular también declina con la edad y en algunos tejidos (músculo, sangre, hígado y cerebro), este declinar va unido a la menor respuesta proliferativa de las células madre y de las células progenitoras específicas de cada tejido.

La dieta juega un papel muy importante en el proceso irreversible que conduce al envejecimiento, pues la restricción de su contenido calórico, al conseguir aminorar la generación de ROS por la mitocondria, se presenta como uno de los medios más efectivos para asegurar una vejez saludable e incluso prolongar la vida. Existe amplia evidencia que demuestra el efecto beneficioso de la dieta restrictiva sobre animales de laboratorio, en los que se ha observado una progresión más lenta del propio envejecimiento, un retraso en la aparición de los achaques típicos de la senectud y un aumento de la esperanza de vida [3, 4].

El envejecimiento saludable depende de interacciones beneficiosas y dinámicas entre factores biológicos, psicológicos y ambientales. No hay una sola ruta que conduzca al envejecimiento celular, más bien hay un sinergismo o antagonismo de múltiples mecanismos. Un problema crucial es comprender cómo las células acumulan daño a medida que transcurre el tiempo y cómo este daño produce cambios en su función, que se traduce en la disfunción de órganos y tejidos.

Definiciones del envejecimiento

A medida que se profundiza en el estudio del envejecimiento, van evolucionando las diferentes definiciones acerca del mismo. Así, en 1955 Masoro lo define como «todos los cambios de deterioro con el tiempo durante el estado posmaduracional, que llevan a un incremento en la vulnerabilidad y disminuye la capacidad del organismo de sobrevivir». Alex Comfort, uno de los pioneros en la investigación del envejecimiento, lo define en 1960 como «el aumento de la obligación de morir o un aumento de la pérdida de vigor, asociado al incremento de la edad cronológica o del paso del ciclo de vital». Smith en 1962 la complementa diciendo que es «aquello que hace a los

individuos más susceptibles a diversos factores intrínsecos o extrínsecos que pueden causar la muerte». Frolkis en 1982 da un gran paso al decir que el envejecimiento «es un proceso biológico natural que limita las posibilidades adaptativas del organismo, incrementa las posibilidades de morir, reduce el espacio vital y promueve las patologías» [5].

Las pautas para una definición adecuada las da Bernard Strehler en 1984, quien propone que la definición ideal de envejecimiento debe comprender un proceso que sea: 1. *Universal*, ya que afecta todos los miembros de una especie. 2. *Progresivo*, porque tiene una instauración gradual. 3. *Intrínseco*, porque no es el resultado de una variable modificable y 4. *Deletéreo*, porque afecta a la función del organismo y promueve estados patológicos.

De estos principios surge una definición que quizás sea la más aceptada universalmente, expuesta por Robert Arking: «el envejecimiento es una serie de cambios dependientes del tiempo, acumulativos, progresivos, intrínsecos y deletéreos, estructural y funcionalmente, que se manifiestan por sí mismos, en la madurez reproductiva y eventualmente culminan con la muerte». También Denham Harman la define como «el acumulo progresivo de cambios, dependiente del tiempo, responsable del mayor riesgo de enfermedades y muerte del individuo».

Otra forma de definir el envejecimiento es la de describir sus consecuencias, tales como:

a) Pérdida progresiva de la eficacia y vigor de casi todas las funciones fisiológicas.

b) Atrofia o degeneración de la mayoría de los órganos vitales, especialmente detectables en aquellos que contienen células post-mitóticas, neuronas, células musculares, células hepáticas, etc.

c) Progresivo aumento de la sensibilidad a traumatismos, infecciones y fármacos, unido a un funcionamiento anormal del sistema inmunitario.

d) Mayor riesgo a enfermedades degenerativas y cáncer [6, 7].

Expectativa de vida, supervivencia y longevidad máxima

Hay que establecer una distinción entre la longevidad media, expectativa de vida o supervivencia de cada individuo y la longevidad máxima referida a la especie. La longevidad máxima depende de los genes de cada especie, mientras que la expectativa de vida o supervivencia depende en una gran parte de los factores ambientales. La longevidad media ha aumentado considerablemente a lo largo de los tiempos (curvas de supervivencia), mientras que la longevidad máxima no varía y es aquel punto donde caen todas las curvas, y en la especie humana se cifra en 125 años (Figura 1). No hay pruebas de que haya aumentado

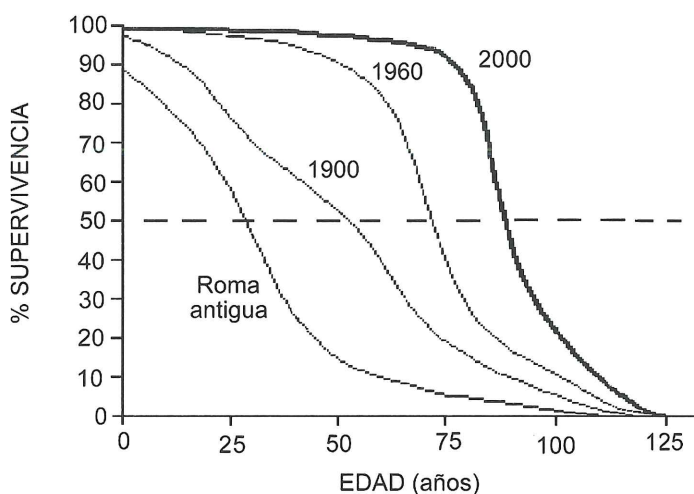


FIGURA 1. Curvas de supervivencia en poblaciones humanas en distintas épocas.

la longevidad máxima en humanos. Hasta donde conocemos con certeza, la longevidad máxima alcanzada por un ser humano son ciento veintidós años, vividos por la francesa Jeanne Louise Calment, desde 'el 21 de febrero de 1875 hasta el 4 de agosto de 1997. Vivió 122 años y 164 días y murió «de vieja». La mayoría de los gerontólogos proponen que el secreto de tal longevidad reside en una combinación favorable de genes y medioambiente [8, 9].

Es indiscutible que es el genotipo el que determina la variación en el promedio de la longevidad máxima entre las especies. Por ejemplo, el nematodo *Caenorhabditis elegans* vive menos de un mes, el ratón 3 años, el humano 125 años y la tortuga gigante cientos de años. Sin embargo, la variación en la longevidad media o expectativa de vida de individuos de la misma especie, parece estar afectada por el acumulo, a través del tiempo, de errores moleculares que comprometen la función de las células madre. Estas alteraciones moleculares pueden aparecer a nivel genético y epigenético y dependen del genotipo (factores intrínsecos), el medio ambiente (factores extrínsecos) y factores estocásticos (indeterminados). Así, el genotipo específico determina el programa general del desarrollo ontogénico y la longevidad máxima de las especies, mientras que las peculiaridades del proceso del envejecimiento específicas del individuo están determinadas por una combinación multifactorial compleja de factores genéticos (herencia), ambientales y estocásticos cuyas contribuciones relativas están aún por determinar. En nuestra especie, esta combinación gobierna características tales como la longevidad y la vida saludable.

El papel de los factores genéticos en el envejecimiento tiene varios aspectos. Uno concierne al hecho de que combinaciones específicas de genes (genotipos específicos de las especies), determinan el orden general de la amplia

variación de la longevidad máxima. Esto está demostrado por los cambios dramáticos observados como resultado de la alteración de un solo gen en los síndromes humanos progeroides. Un segundo aspecto concierne al impacto de la herencia en la variación de la expectativa de vida entre individuos de la misma especie. Lo que puede llegar a vivir una persona, su esperanza de vida o supervivencia, depende de los genes y del estilo de vida.

Un parámetro, relativo a la longevidad máxima, muy variable entre las especies, es el *potencial de energía vital*, que se refiere al número de calorías que utiliza un organismo por unidad de peso corporal. Aplicado a los mamíferos, este parámetro es mayor en animales de pequeño tamaño y elevado ritmo metabólico. Cabe preguntarse, ¿Porqué los animales de mayor tamaño (elefantes) viven más que los de tamaño más pequeño (ratones). Y también, ¿porqué los latidos cardiacos del elefante van más despacio que los del ratón? Para responder a estas preguntas hay que tener presente dos sistemas de medida, el tiempo solar y el tiempo metabólico, que permitirán establecer las diferencias entre la esperanza de vida del elefante (70 años) y la del ratón (3 años). Usando el reloj metabólico el elefante vive más que el ratón, porque el número de sus latidos cardiacos es menor que el correspondiente al ratón. La clave está, por tanto, en el ritmo metabólico. Un animal con ritmo metabólico bajo respira más lentamente y su corazón late también más lentamente, cuando se compara con un animal de ritmo metabólico elevado. Considerando el tiempo solar el animal con potencial de energía vital más bajo, alcanza la madurez sexual más tarde y su esperanza de vida es más larga que las criaturas de tamaño más pequeño. La explicación a estas diferencias es que en el metabolismo normal se generan unos subproductos reactivos que causan daño al DNA y tal daño es el origen de las enfermedades asociadas al envejecimiento. Si el ritmo

metabólico es más lento se produce menos daño oxidativo al DNA en los tejidos, lo cual se traduce en menor riesgo de enfermedades y en mayor esperanza de vida.



FIGURA 2. *Diferencia en la longevidad máxima en diferentes especies. El elefante con una longevidad máxima de 70 años, tiene un ritmo metabólico más bajo que el ratón, cuya longevidad máxima es de 3 años.*

La situación antes expuesta se complica cuando se analiza la energía que utiliza un gramo de tejido de un animal, a lo largo de la vida. De esta manera Jonh Speakman observa, que los tejidos de animales de pequeño tamaño utilizan más cantidad de energía que los tejidos de animales de mayor tamaño [10]. Al establecer comparaciones entre la cantidad de energía utilizada por unidad de tejido, se concluye que el tejido de ratón vive más en términos metabólicos que el tejido de elefante.

A pesar de las conclusiones a las que se ha llegado con las investigaciones antes citadas, que intentan explicar las diferencias en la longevidad de las diferentes especies, en

referencia al tamaño corporal, éstas no se han resuelto totalmente, ya que en otros casos, a igualdad de tamaño corporal existen diferencias muy notables en el potencial de longevidad máxima entre diferentes vertebrados. Así, la esperanza de vida y la longevidad máxima son mucho mayores en las aves que en los mamíferos. Por ejemplo, si se comparan las palomas con las ratas, ambas con un peso corporal similar, las palomas pueden vivir 35 años, mientras que las ratas sólo 4 años. El grupo de Gustavo Barja ha investigado estos problemas y ha encontrado que el consumo de oxígeno por la mitocondria resulta similar en palomas y en ratas, pero la generación de ROS es menor en las palomas que en las ratas, con lo que su DNA mitocondrial resulta menos lesionado y puede ser reparado más eficazmente (Figura 3) [11, 12].

Estudios de este mismo grupo, han demostrado que los niveles constitutivos de antioxidantes endógenos se relacionan de manera negativa con dicha longevidad, lo cual indica que a mayor producción de ROS por la mitocondria menor expectativa de vida. Además, el ritmo metabólico basal se relaciona con el envejecimiento y con el período de máxima longevidad. La explicación de este comportamiento diferente entre paloma y rata tienen su base en que en las palomas, a igual consumo de oxígeno, la generación de ROS por las mitocondrias es menor y las membranas mitocondriales son menos sensibles a la lipoperoxidación. Lo primero no está claro aún, pero se atribuye a un distinto comportamiento en el funcionamiento de la cadena electrónica mitocondrial (Figura 3). Lo segundo se debe a que los lípidos integrantes de las membranas son menos insaturados en las palomas y esto hace que sean menos sensibles a la lipoperoxidación. En las palomas es más bajo el contenido en ácidos grasos altamente insaturados (docosahexanoico, 22:6n-3 y araquidónico, 20:4n-6). Por tanto, un bajo grado de insaturación lipídica es una característica

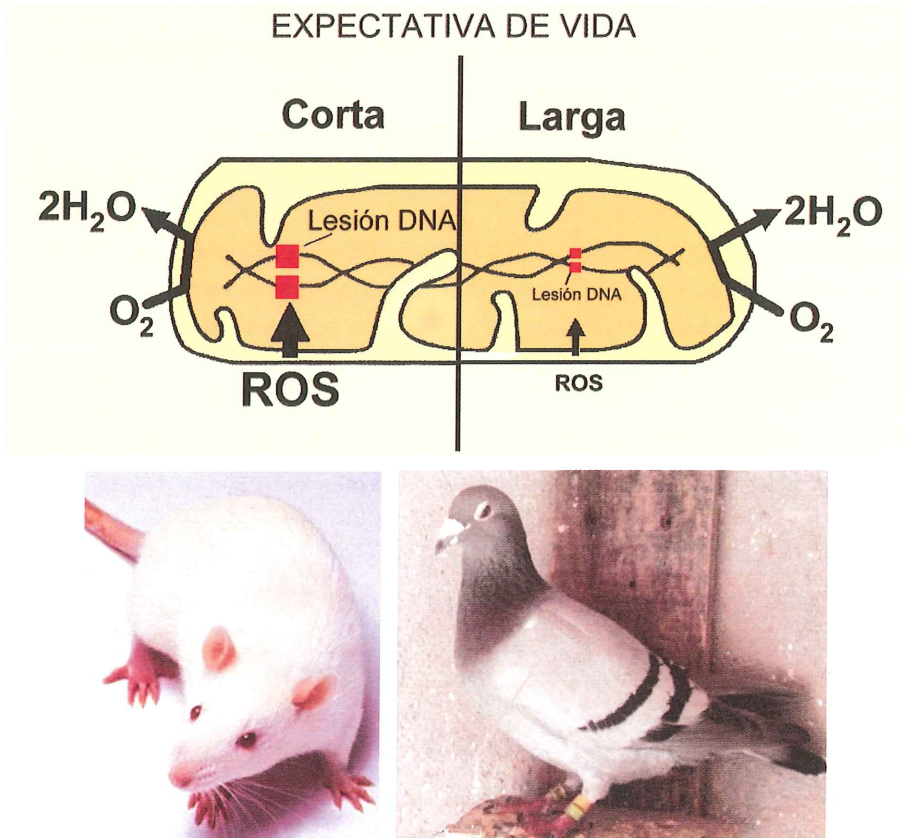


FIGURA 3. La mitocondria, en los animales de expectativa de vida larga y expectativa de vida corta. La paloma (35 años), ante el mismo consumo de oxígeno por la mitocondria y un peso corporal parecido, genera menos especies reactivas de oxígeno (ROS) y produce menor lesión al DNA mitocondrial, que la rata (4 años). [6]

general de animales longevos homeotermos. Se ha observado que las membranas mitocondriales de las palomas son menos permeables a los protones y que la lesión oxidativa al DNA mitocondrial se relaciona inversamente con el máximo periodo vital. También se ha detectado que en aves es menor glicosilación de las proteínas y menor el acumulo de productos terminales de glicosilación avanzada (AGE) [11, 12].

Es cierto que el avance cultural ha permitido un aumento de la supervivencia en humanos, pero no ha desacelerado la intensidad del fenómeno fisiológico intrínseco del envejecimiento, que es inversamente proporcional a la longevidad máxima de cada especie y es tanto más lento cuanto más vive el animal. De no ser así, los humanos podríamos alcanzar los 120 años con la apariencia de 60. Al aumentar solo la longevidad media, pero no la máxima, han aumentado aquellos años en los que el individuo vive fisiológicamente más disminuido [6].

Biomarcadores del envejecimiento. Edad biológica

Es importante distinguir entre la edad biológica y edad cronológica. Edad biológica o fisiológica es la que se corresponde con el estado funcional de nuestros órganos al compararlos con patrones para una determinada edad cronológica. El conocimiento de la edad biológica es más informativo sobre nuestro envejecimiento real. Es fácil entender, cuando observamos a alguien que parece más joven de lo que realmente es por su edad cronológica, que el envejecimiento no es lo mismo para todos. Es más, cada uno de nuestros tejidos, órganos y sistemas, envejecen a ritmo diferente en cada uno de nosotros. Esto hace que la edad biológica solo pueda entenderse como un promedio de cada uno de estos elementos. En base a esta heterogeneidad, incluso en un solo individuo, se hace muy difícil la evaluación de la edad biológica con exactitud.

La expectativa de vida entre individuos de la misma especie es heterogénea, de tal manera que el ritmo de envejecimiento, evaluado como el declinar de la capacidad funcional y la resistencia al estrés, es diferente en cada individuo. Existen tentativas para analizar el envejecimiento individual o biológico en comparación con el envejeci-

miento cronológico. Los biomarcadores del envejecimiento pueden ayudar a caracterizar la edad biológica y ser utilizados para investigar el estado de salud de cada organismo y el riesgo de padecer enfermedades o alteraciones asociadas a la edad. Los biomarcadores basados en el estrés oxidativo, glicación de proteínas, senescencia celular, función del sistema inmune y regulación hormonal, son los que van a permitir definir la edad biológica con mayor exactitud. Un conjunto de genes determina si envejecemos de manera más o menos rápida de lo normal. Se ha conseguido hallar una serie de biomarcadores de DNA que pueden establecer la edad biológica de cualquier individuo. Con ellos podrá explicarse porqué personas jóvenes parecen envejecidas o porqué se conservan tan bien algunos individuos viejos. La ausencia de sincronía entre la edad cronológica y la biológica en los humanos es una cuestión que los científicos se empeñan en resolver porque, de conseguirlo, podrían desarrollarse medicamentos anti-edad, así como prevenir vulnerabilidades prematuras.

Se ha comprobado que el estado funcional del sistema inmune es el mejor marcador de la edad biológica, que puede predecir la longevidad. Mónica de la Fuente y su grupo [12, 13] han observado que los centenarios mantienen sus funciones inmunológicas en buenas condiciones, ya que el perfil del análisis de los marcadores inmunes se asemeja a los de personas mucho más jóvenes. Los mismos resultados se han obtenido en experimentos con animales de laboratorio muy longevos. Esto demuestra que el sistema inmune es un indicador excelente de la edad biológica y un marcador de la salud y la longevidad. Se ha comprobado, tanto en humanos como en animales, que la capacidad funcional de los leucocitos, analizada mediante parámetros que se modifican con el envejecimiento, es un marcador de la edad biológica. Al igual que en otros tejidos del organismo, el envejecimiento del sistema inmune es el resultado del estrés

oxidativo y del descenso en los niveles de defensas antioxidantes, que se va produciendo en las células con el paso del tiempo. Además, el sistema inmune innato, que necesita producir radicales libres oxidantes e inflamatorios para poder cumplir su misión, está implicado muy directamente en la oxidación/inflamación asociadas al envejecimiento. También se ha comprobado en humanos y animales viejos, que la ingestión de antioxidantes modifica los parámetros funcionales de los leucocitos, dejándolos en niveles similares a los de individuos más jóvenes. Este «rejuvenecimiento» inmunitario trae consigo una mayor longevidad.

La edad biológica o fisiológica, refleja el vigor o la decrepitud del organismo y se evalúa a partir de factores que comprenden por supuesto la edad cronológica, pero también los genes, el estilo de vida, la salud mental y otras variables. Melov y su equipo han utilizado marcadores genéticos, mediante la obtención de perfiles de expresión genética en el gusano *C. elegans*, frente a la expectativa de vida. De esta manera han logrado demostrar que la expresión de un conjunto de genes, que se encuentra implicada en el proceso de envejecimiento fisiológico, refleja con bastante aproximación la edad biológica del gusano [14].

Para cuantificar la edad biológica de un paciente están siendo analizados y procesados 21 marcadores y pruebas bioquímicas de estrés oxidativo, mediante el uso de sistemas informáticos. El análisis de estos marcadores pretende tratar a cada paciente en función de su edad biológica, y no de su edad cronológica.

La salud en edades avanzadas es el resultado de mantener una edad biológica más joven que la correspondiente a la misma edad cronológica. Esto abre camino a una terapia preventiva geriátrica, orientada a la detección de sistemas fisiológicos que envejecen prematuramente y a la instauración de medidas para frenar este envejecimiento prematuro.

Es quizás aún más interesante desde el punto de vista del geriatra definir una tercera edad, la edad funcional, como la capacidad para mantener los roles personales y la integración del individuo en la comunidad, para lo cual es necesario poseer unos niveles razonables de capacidad física y mental. Es esta edad la que puede valorar las capacidades del anciano y definir una calidad de vida satisfactoria que le permita envejecer con éxito.

Genes de longevidad. Sirtuínas

La biología moderna tiene su base en estudios sobre la levadura *Saccharomyces*, el nematodo *C. elegans* y la mosca *Drosophila*, por permitir en estos organismos más sencillos, la realización de estudios muy precisos en menor tiempo, con resultados que llevan a conclusiones que pueden ser extrapoladas a vertebrados. La amplia evidencia obtenida a partir de estos modelos, ha indicado que sutiles variaciones en determinados genes, pueden influenciar de manera notable la expectativa de vida. Los genes clave y las vías metabólicas que se han identificado hasta la fecha se encuentran implicados en el metabolismo y en el mantenimiento de mecanismos reparadores que aminoran el acumulo de daño oxidativo relacionado con la edad [4].

Así como la longevidad máxima de las especies se encuentra bajo control genético, el envejecimiento de cada individuo está también regulado por el ritmo al cual se acumula el daño a las macromoléculas inducido por el medioambiente o por factores estocásticos [4, 15]. Como resultado, el daño a las macromoléculas se acumula de manera paulatina e irreversible, a lo largo del curso de la vida, dando lugar a situaciones que conducen a un permanente riesgo de enfermedad y muerte. La longevidad y el mantenimiento de la salud en edades avanzadas pueden

conseguirse mediante diversas estrategias que tienden a aminorar el riesgo de lesión y a evitar los peligros ambientales. Las vías que ejercen influencias beneficiosas sobre el metabolismo, que mantienen la función de los mecanismos reparadores y que previenen el acumulo de daño permanente, representan los candidatos moleculares clave para preservar la salud y alcanzar la longevidad.

Durante mucho tiempo se ha considerado que el envejecimiento de un organismo era un proceso genéticamente programado como continuación activa del desarrollo, de manera que una vez que un individuo alcanzaba la madurez, los genes del envejecimiento (*aging genes*) comenzaban a dirigir el progreso hacia la muerte. Esta idea se ha descartado y en la actualidad se considera que el envejecimiento es un desgaste o deterioro, debido a la disminución con la edad, de los sistemas de reparación para el mantenimiento de la homeostasis. La selección natural evolutiva no encuentra razón para mantener en funcionamiento estos sistemas reparadores, una vez que el organismo ha superado su máxima capacidad reproductora [15].

Hoy se sabe que existe una familia de genes implicados en la capacidad de la célula para superar situaciones adversas (elevada temperatura, falta de alimento, etc.), que mantiene las defensas y la actividad reparadora natural a lo largo de la vida. Si se logra que el funcionamiento del organismo esté en buenas condiciones, estos genes proporcionarán oportunidades para superar el estrés, mantener la salud y conseguir la longevidad. En contraposición a los genes de envejecimiento, antes aludidos, éstos se denominan *genes de longevidad*.

La evolución ha favorecido un sistema universal regulador que coordina la respuesta al medio ambiente. Muchos genes de reciente descubrimiento (*daf-2*, *pit-1*, *amp-1*, *clk-1*

y *p66Sbc*), intervienen en la resistencia al estrés y en la longevidad y forman parte de un mecanismo fundamental de supervivencia frente a situaciones adversas [16]. La identificación de los genes que dirigen los mecanismos implicados en las defensas naturales de respuesta al medio y controlan la longevidad, ha de proporcionar un medio de evitar las enfermedades y achaques propios de la edad avanzada.

Sinclair y Guarente [17] han estudiado un gen denominado *Sir2*, cuyas variantes se encuentran en diversos organismos y han observado que cuando existen copias extra de este gen se eleva la longevidad en seres tan diversos como la levadura *S. cerevisiae*, el nematodo *C. elegans*, la mosca *Drosophila* y ratones. Guarente y su grupo, descubrieron [18], que la dieta baja en calorías producía la activación de la transcripción del gen *Sir2*, y también observaron que la proteína codificada por este gen, se encontraba en mayor concentración en la mosca *Drosophila* cuando ésta se sometía a menor aporte calórico en su dieta, demostrándose con esto que la proteína SIR2 desempeñaba un papel central en el ciclo metabólico celular. A partir de este hallazgo, estos autores crearon una mosca mutante que producía en exceso la proteína SIR2, y podía vivir hasta un 60% más que las moscas normales [18-20].

Las proteínas SIR (*silent information regulator*) regulan la longevidad en muchos organismos por su capacidad de silenciar la cromatina, aumentar la capacidad de reparación del DNA, encontrándose implicadas en la fidelidad cromosómica durante la meiosis. Estos mismos autores, [21] al seleccionar colonias de levadura que mostraban larga vida, encontraron una mutación en el gen *Sir4*, que codifica parte de un complejo de proteínas que contenía la proteína SIR2. La mutación en el gen *Sir4* hizo que la proteína SIR2 se uniese a la región más repetitiva del genoma de la levadura, el tramo que contiene los genes que codifican los

ribosomas, que se conoce como DNA ribosómico (rDNA). Más de 100 repeticiones de rDNA existen en el genoma de la levadura, y son difíciles de mantener en un estado estable, pues tienen la capacidad de recombinarse entre ellas, proceso que extrapolado en humanos podría ocasionar enfermedades tales como el cáncer o la enfermedad de Huntington. Estos datos demostraron que el envejecimiento en la levadura era causado por la inestabilidad producida por las repeticiones de rDNA, de tal manera que la levadura al dividirse generaba más copias de rDNA, que a su vez, formaban anillos extracromosómicos (ERC), que se replicaban con los cromosomas. El acumulo progresivo de estos anillos ERC requería cada vez más energía para su replicación, llegando a incapacitar a la célula para replicar su propio genoma, y la conducía a la muerte. En estas condiciones se observó, que añadiendo copias extra del gen *Sir* a la levadura, se reprimía la formación de los ERC en las células hijas, y se conseguía así prolongar la vida de la célula [17]. Las proteínas SIR2, como poseen actividad histona desacetilasa, al eliminar grupos acetilo de las histonas, consiguen empaquetar el DNA de tal manera, que lo hacen inaccesible a los enzimas responsables de sacar los ERC fuera del cromosoma. La forma del DNA con histonas desacetiladas es silente debido a que cualquier gen que se encuentre en estas regiones del genoma es inaccesible a la activación [21, 22].

Las proteínas SIR2 (sirtuínas) necesitan NAD^+ (nicotinamida adenina dinucleótido) para su actividad desacetilasa, que se encuentra implicada en una serie importante de procesos biológicos. Las sirtuínas, mediante la desacetilación de reguladores transcripcionales, juegan un importante papel en la respuesta al estrés y a las citoquinas, en la diferenciación y el metabolismo, al eliminar residuos acetilo de proteínas que actúan como reguladores transcripcionales. Con el descubrimiento de las sirtuínas se ha demostrado la exis-

tencia de una nueva misión para el NAD^+ en la regulación transcripcional. Las sirtuínas poseen la capacidad única de acoplar la fragmentación del NAD^+ con la desacetilación de las proteínas mediante la formación de nicotinamida y *O*-acetil-ADP ribosa. El requerimiento de NAD^+ implica que las sirtuínas funcionan como sensores de energía o sensores redox que conectan el metabolismo energético con la regulación transcripcional (Figura 4) [4, 22].

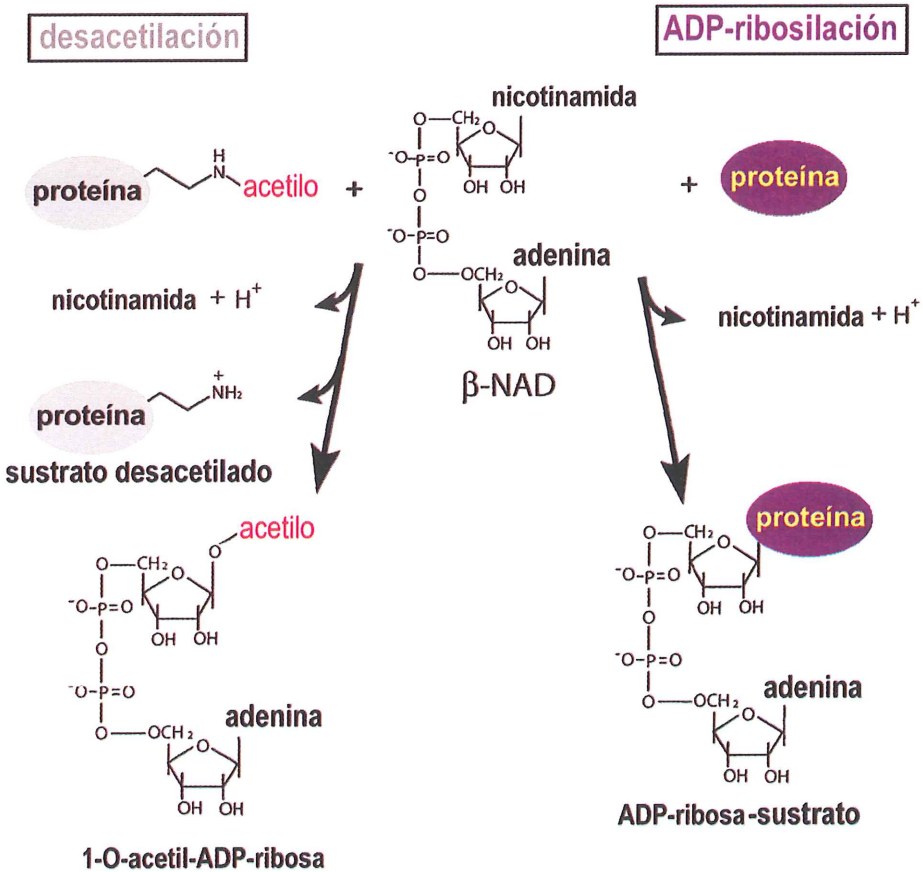


FIGURA 4. Las sirtuínas catalizan las reacciones de desacetilación o de ADP ribosilación de un sustrato proteico. Ambas reacciones rompen la molécula de NAD^+ y liberan nicotinamida [4, 22].

Las sirtuínas son una clase de proteínas evolutivamente conservadas que regulan una variedad de funciones celulares tales como el mantenimiento del genoma, la longevidad y el metabolismo. En mamíferos existen siete homólogos de la SIR2 de levadura, SIRT1-7 (Tabla 1), que contienen un dominio catalítico con 275 aminoácidos. Se ha demostrado el papel que juegan estas sirtuínas como reguladoras del envejecimiento, lo cual las convierte en objetivos farmacológicos potenciales para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la edad. Las proteínas SIRT1-7 difieren en su localización subcelular y en las secuencias proteicas amino y carboxilo terminales, que flanquean el núcleo catalítico, que posee motivos de interacción con otras proteínas y señales de localización celular. La mayoría de las sirtuínas catalizan la desacetilación dependiente de NAD^+ , de residuos de lisina amino acetilados de sustratos proteicos (Figura 4). SIRT4 y SIRT6 median la ADP-ribosilación de sustratos proteicos utilizando NAD^+ como donador. Las sirtuínas de mamíferos tienen múltiples sustratos y afectan a un amplio espectro de funciones celulares (Tabla 1). De las siete sirtuínas de mamíferos, tres de ellas (SIRT1, 6 y 7) se localizan en el núcleo. La más estudiada es la SIRT1, que actúa sobre más de una docena de sustratos conocidos, ejerce un papel protector ante el estrés oxidativo y el daño al DNA, y juega un papel prominente en tejidos metabólicos, como páncreas, hígado y tejido adiposo. SIRT6 y SIRT7 son reguladores importantes del metabolismo y daño al DNA [22].

SIRT1, regula muchos procesos fisiológicos afectados por la edad, al desacetilar un gran número de sustratos proteicos: p53, Ku70, NF- κ B, FOXO, lo cual se relaciona con la resistencia al estrés que confiere la restricción dietética. SIRT1 también regula las actividades de los receptores nucleares PPAR γ y del coactivador PGC-1 α , para influenciar la diferenciación de las células musculares,

Tabla 1. *Diversidad de las sirtuínas de mamíferos [22]*

<i>Sirtuína</i>	<i>Actividad</i>	<i>Localización</i>	<i>Interacciones</i>	<i>Biología</i>
SIRT1	Desacetilasa	Núcleo	FOXO, PGC-1 α	Supervivencia celular/metabolismo
SIRT2	Desacetilasa	Citosol	Tubulina, H4	Ciclo celular
SIRT3	Desacetilasa	Mitocondria	AceCS2	Termogenesis/metabolismo
SIRT4	ADP-ribosil-transferasa	Mitocondria	GDH	Secreción de insulina/metabolismo
SIRT5	Desacetilasa	Mitocondria	?	?
SIRT6	ADP-ribosil-transferasa	Núcleo	DNA Pol β	Reparación del DNA
SIRT7	?	Nucleolo	Pol I	rDNA transcripción

adipogénesis, almacenamiento de grasa en tejido adiposo blanco y metabolismo hepático, lo que establece una conexión entre esta sirtuína y las dietas que promueven el adelgazamiento y la longevidad [23].

El mantenimiento de la homeostasis de la glucosa se verifica por el hígado y por las células β pancreáticas, en respuesta al cambio de nutrientes. Durante el ayuno los hepatocitos inducen la gluconeogenesis para suministrar glucosa a los tejidos. Esta respuesta se encuentra bajo un control estricto de la actividad SIRT1, y proporciona otra conexión entre SIRT1 y el metabolismo intermediario. En hepatocitos en cultivo, SIRT1 interacciona y desacetila a FOXO1, promoviendo la transcripción, dependiente de FOXO1, de los genes hepáticos gluconeogénicos. En el hígado, el coactivador transcriptional PGC-1 α , una vez desacetilado y activado por SIRT1, durante el ayuno, conduce también a la expresión de genes gluconeogénicos y a la represión de los glucolíticos [24].

Restricción calórica y longevidad

Hace más de 70 años que McCay y colaboradores [25] demostraron que una reducción en la ingesta de alimentos prolongaba la vida de las ratas. A partir de aquí muchos laboratorios han repetido con éxito los experimentos de McCay utilizando ratas y ratones, peces, moscas y gusanos. Más tarde Weindruch y colaboradores observaron que la dieta restringida retrasaba el envejecimiento en ratones y establecían relación entre la ingesta energética, la longevidad y la inmunidad [26]. Estudios del grupo de Masoro [27] también han demostrado que la mayor supervivencia de roedores por restricción de alimento, se debe al retraso en la aparición de los achaques propios del envejecimiento. Más recientemente, estudios del grupo de Weindruch han

demostrado en monos macacos el efecto saludable de la restricción de la dieta [28].

Por tanto, es un hecho reconocido el papel que juega la nutrición en la serie de eventos moleculares que conducen a la vejez y también que las dietas hipocalóricas aumentan la expectativa de vida, retrasan el declinar de la función inmune y reducen la incidencia del cancer y la mortalidad en diferentes especies animales. Sin embargo, se conoce poco aún sobre los mecanismos celulares y moleculares que producen estos efectos positivos.

El incremento exponencial de proteínas alteradas por oxidación en la senectud, conlleva la activación transcripcional de genes de respuesta al estrés, que procesan la eliminación de proteínas lesionadas o mal plegadas. Las dietas hipocalóricas actúan disminuyendo la producción de subproductos tóxicos del metabolismo. La disminución de la transcripción de genes, que se induce en respuesta al estrés, implicados en la destoxificación, reparación del DNA y respuesta al estrés oxidativo, producida por la restricción calórica, se debe a la menor disponibilidad de los sustratos para estos sistemas. Los perfiles transcripcionales encontrados en animales alimentados con dietas bajas en calorías, sin deficiencias en nutrientes esenciales, muestran una desviación dirigida hacia un mayor recambio proteico y a una menor lesión macromolecular. Este cambio puede detectarse a nivel hormonal, por ejemplo, sobre las vías señaladoras de la insulina mediante el incremento de la expresión de los genes que median la sensibilidad a esta hormona [2, 4].

Aunque los mecanismos implicados en este fenómeno no están completamente esclarecidos, es un hecho que la restricción calórica de la dieta ejerce efectos sobre la frecuencia de la glucolisis. La explicación a estos efectos es la siguiente:

1. En condiciones de alimentación *ad libitum*, hay un exceso de glucosa y la glucolisis es continua, mientras que en casos de dieta hipocalórica, la glucolisis es discontinua operando solo postprandialmente.

2. Durante los períodos de ayuno inducido por la dieta restrictiva, el cociente NAD^+/NADH es más elevado que el prevalece en caso de alimentación *ad libitum*.

3. En el caso de alimentación *ad libitum*, la glucolisis continua disminuye la disponibilidad de NAD^+ y acumula NADH (NAD^+ reducido), mientras que en el caso de ayuno inducido por la restricción de la dieta, disminuye la demanda glucolítica de NAD^+ y aumenta la oxidación del NADH [29].

Por tanto, en animales alimentados *ad libitum*, la vía glucolítica continua, al necesitar gran cantidad de NAD^+ para oxidar la glucosa, motiva la disminución de la concentración citoplasmática de NAD^+ , mientras que en caso de dieta restringida, al ser menor la cantidad de glucosa que se transfiere hacia la glucolisis, se consume menos NAD^+ y como resultado existe mayor disponibilidad del NAD^+ necesario para activar a las sirtuínas, que al desacetilar a las proteínas histonas y no histonas, favorecen la longevidad [2, 4, 29].

Además, cuando las células se someten a restricción calórica, se activa otra vía que mantiene elevados los niveles de NAD^+ . En estas condiciones, se inicia un proceso en cascada, a través de la membrana celular, y una señal activa la expresión del gen *Nampt*, y la proteína enzimática resultante se acumula dentro de la célula [30]. La mayor actividad de la NAMPT (nicotinamido fosforibosil transferasa), eleva la concentración de NAD^+ , lo que intensifica la actividad reguladora transcripcional del dominio catalítico de SIRT1. El perfil de la expresión genética ha demostrado que existe una estrecha relación entre la expresión de NAMPT y la de SIRT1 (Figura 5). El acumulo del NAD^+ en

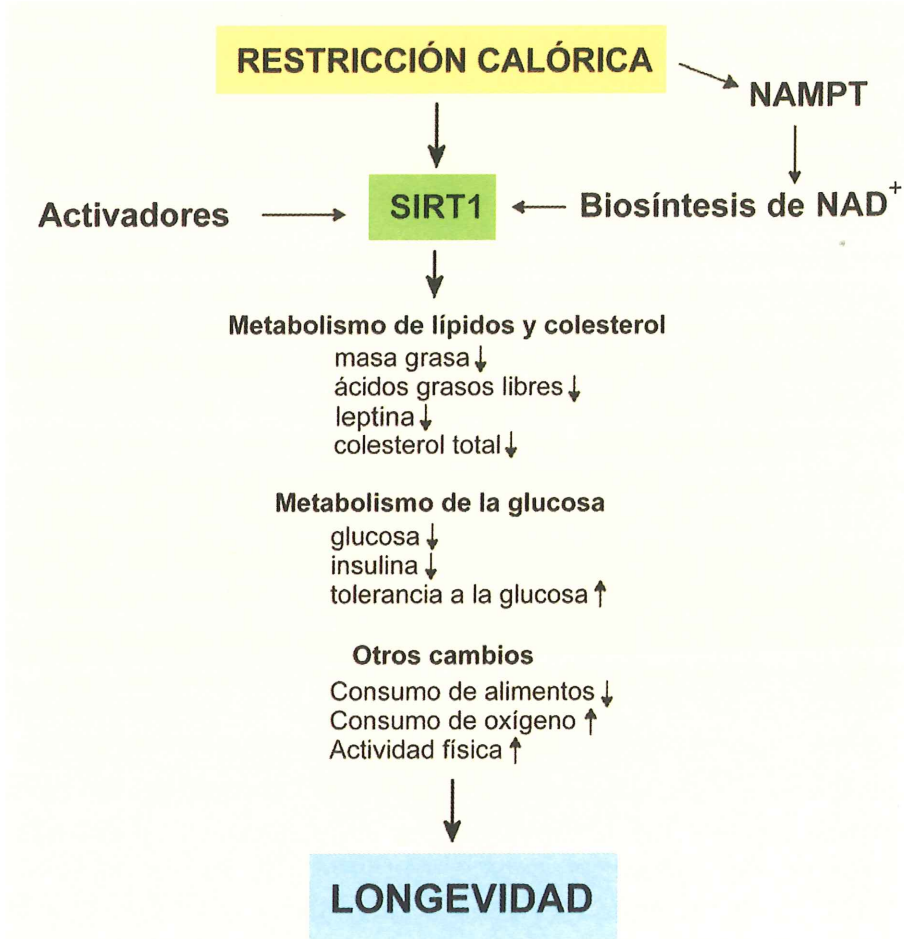


FIGURA 5. *SIRT1* como mediador clave en la respuesta a la restricción calórica. Los activadores químicos de *SIRT1* y la biosíntesis de NAD^+ por NAMPT (nicotinamido fosforibosil transferasa) median estos cambios fisiológicos a través de la activación de *SIRT1* [31].

el interior de las mitocondrias ejerce un efecto posterior y es el de aumentar la actividad de otras dos proteínas mitocondriales producidas por los genes *SIRT3* y *SIRT4*.

El efecto combinado de todos estos procesos hace que las mitocondrias se robustezcan y aumenten su produc-

ción de energía, lo que conlleva un retraso en el envejecimiento celular. En conclusión, la dieta baja en calorías eleva las concentraciones de NAMPT, NAD⁺ y SIRT1, y todo junto hace que la célula viva más y con más energía [31].

Estudiando el efecto de la dieta hipocalórica, otros grupos han demostrado que la restricción de proteínas de la dieta ejerce también efecto positivo al disminuir la generación mitocondrial de ROS y el daño oxidativo al DNA y a las proteínas. Se ha encontrado que la restricción isocalórica de metionina de la dieta, eleva la expectativa de vida de ratas y ratones, lo cual ha hecho proponer que es la restricción de este aminoácido la clave de los efectos beneficiosos que conducen a la prolongación de la vida por efecto de la restricción proteica. [32, 33]. El mecanismo mediante el cual la restricción de metionina ejerce efectos anti envejecimiento tiene, al parecer, su base en que la metionina es el aminoácido iniciador en la traducción del mRNA, por lo tanto su limitación decrece la biosíntesis proteica, y con ello la generación de proteínas erróneas generadas por los ribosomas. Esto incrementa la disponibilidad de las proteasas para la eliminación de las proteínas alteradas en el proceso post-traduccional y previene el acumulo de proteínas anormales, uno de los síntomas característicos del envejecimiento [29].

Todas estas consideraciones demuestran que la restricción calórica es una estrategia experimental que prolonga la supervivencia y retrasa el envejecimiento. Se han emitido varias hipótesis para explicar las bases de los mecanismos implicados en estos efectos. Originalmente se propuso que la mayor supervivencia se debía al retraso del crecimiento y el desarrollo. Más tarde, se consideró que era debida a la reducción en el contenido en grasa corporal. Recientes investigaciones dirigen el impacto de la dieta restringida

hacia la respuesta al estrés y los mecanismos de señalización. Hoy en día, las hipótesis principales para explicar el efecto de la dieta hipocalórica, son: atenuación del daño oxidativo, cambios en el sistema glucosa/insulina, y hormesis [34].

La *atenuación del daño oxidativo* por efecto de la dieta hipocalórica se ha detectado en las macromoléculas, DNA, proteínas y lípidos. Esto se debe a la menor generación de especies reactivas de oxígeno, a la mayor generación de mecanismos protectores, a la mayor capacidad reparadora o a una combinación de todas ellas. La premisa *glucosa/insulina* es que la dieta hipocalórica reduce la concentración de glucosa e insulina plasmáticas, con la consiguiente reducción de la señalización por insulina. Últimamente, se propone un incremento en la efectividad de la glucosa y en la respuesta a la insulina o ambas. Esta hipótesis se ha emitido a la luz de los datos que muestran que la pérdida de los sistemas señalizadores de la insulina origina una prolongación de la vida en muchos organismos (nematodos, moscas de la fruta etc.). Además, la restricción calórica reduce la *señalización por el IGF-1*, observada en modelos de mamíferos con una mayor supervivencia. La *hormesis* propone un beneficio a la salud a partir de agentes estresantes de baja intensidad. La restricción calórica puede funcionar a través de la hormesis, ya que puede actuar como un estresante suave, que produce una respuesta adaptativa tal como el elevado mantenimiento de los sistemas de reparación. La dieta hipocalórica, como parte del efecto hormético eleva la expresión de genes de respuesta al estrés. En línea con la restricción calórica como agente estresante de baja intensidad, es relevante sugerir que los enzimas implicados en las vías de reparación del DNA pueden funcionar como productos de genes de respuesta al estrés cuando se exponen a una dieta hipocalórica.

Los mecanismos mediante los cuales la dieta hipocalórica produce sus efectos beneficiosos, son en el momento actual un desafío tentador para los investigadores en base a la posibilidad del desarrollo de fármacos que pudieran reproducir estos efectos saludables. El fenómeno, atribuido en un principio al metabolismo celular más lento y a una reducción de los subproductos tóxicos en respuesta a la menor cantidad de alimento, ha resultado ser demasiado simple y las recientes investigaciones demuestran que esta interpretación no es del todo correcta. La restricción calórica de la dieta no retrasa el metabolismo, más bien como estresante biológico (escasez de alimento), induce una respuesta defensiva, y esa respuesta es la que estimula las posibilidades de supervivencia del organismo. En mamíferos su efecto incluye cambios en los mecanismos celulares de reparación, estabilidad genómica, recambio mitocondrial, homeostasis de la insulina y la glucosa, macroautofagia y apoptosis.

La menor disponibilidad de nutrientes ejerce importantes efectos sobre el metabolismo celular y el funcionamiento mitocondrial. En estas condiciones la concentración de ADP se eleva y el influjo de ADP en la mitocondria es lo que gobierna la eficacia de la cadena de transporte electrónico. Por el contrario, un exceso de nutrientes produce una elevada concentración de ATP, lo que se traduce en una baja demanda energética (bajos niveles de ADP), que causan un subóptimo funcionamiento mitocondrial, unido a una elevada generación de ROS.

Los efectos beneficiosos de la dieta hipocalórica están también íntimamente relacionados con la respuesta neuroendocrina a la escasez de alimento. En esta respuesta juegan un papel crucial las neuronas del núcleo arciforme hipotalámico. El neuropéptido Y, un neurotransmisor en la línea frontal del núcleo arciforme, que se activa en respues-

ta a la menor disponibilidad de alimento (señal de hambre), puede ser un mecanismo crítico implicado en la prolongación de la vida [35].

El régimen dietético hipocalórico, al que hemos aludido repetidamente, implica la reducción del 30 al 40% del alimento *ad libitum* (restringiendo calorías no nutrientes). En animales (ratas, perros y primates) sometidos a esta dieta restrictiva, se ha demostrado que no solo viven más, sino que se mantienen más sanos durante la prolongación de sus vidas. Esto indica que este régimen, además de aumentar la supervivencia, evita o retrasa la mayoría de enfermedades asociadas a la senectud, como cáncer, diabetes y enfermedades neurodegenerativas.

Activadores de las sirtuínas. La restricción calórica (nutrientes si, calorías no) supone consumir menos de 1750 calorías diarias, lo cual puede en algunos momentos resultar difícil. Es un hecho reconocido que para evitar los achaques de la vejez hay que restringir la dieta. Si los humanos quieren conseguir los beneficios de la restricción calórica, el mantenimiento de una dieta radical no es una opción razonable, así que, en el momento presente se está intentando encontrar el modo de activar las sirtuínas sin necesidad de una estricta restricción dietética. Existen ya fármacos que pueden modular la actividad de las sirtuínas de una manera similar a la dieta hipocalórica. Se ha demostrado que es particularmente interesante un compuesto activador de las sirtuínas, el *resveratrol*, una fitoalexina presente en uvas negras, vino tinto, mosto, nueces, etc, cuya fórmula, *trans* 3,5,4' trihidroxi estilbeno lo caracteriza como un compuesto fenólico de la familia de los flavonoides. Se sintetiza por una variedad de plantas cuando sufren situaciones de estrés. Muchos otros flavonoides (quercetina, curcumina, etc), también activan la expresión de las sirtuínas [3, 4].

Estos compuestos poseen propiedades antioxidantes anticancerígenas, antiinflamatorias, reducen la síntesis de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos). Son también antiagregantes plaquetarios y antidiabéticos, y previenen las enfermedades degenerativas.

El impacto del resveratrol se ha estudiado sobre la mitocondria y se ha comprobado que este compuesto eleva significativamente la capacidad aeróbica y el consumo de oxígeno en las fibras musculares de ratón. Los efectos obtenidos con el resveratrol se asociaron con la inducción de genes implicados en la fosforilación oxidativa (OXFOS) y en la biogénesis mitocondrial, y se explican por la activación, mediada por el resveratrol, de la desacetilación y actividad del coactivador PGC-1 α . Este mecanismo es consistente con el efecto, anteriormente mencionado, que el resveratrol es un activador de la SIRT1. Se ha observado, además, que tratamiento con resveratrol protegió a los ratones de la obesidad inducida por dieta grasa y la resistencia a la insulina [36-38]. La administración de resveratrol a levadura, gusanos o moscas, o las dietas hipocalóricas alargan su longevidad en un 30%, siempre que estos organismos posean el gen *Sir2*. La interpretación más simple es que tanto la dieta hipocalórica como el resveratrol prolongan la vida de las moscas de la fruta al activar la expresión de *Sir2*. Las moscas alimentadas con resveratrol no solo viven más, a pesar de alimentarse *ad libitum*, sino que no padecen reducción de fertilidad causada a menudo por la restricción calórica.

Estabilidad genómica

La protección del DNA es un elemento clave en la prevención del cáncer y el envejecimiento. Cuando la lesión en el genoma persiste, mediante procesos replicativos

y de mutagénesis asociada a la transcripción, se hace permanente en forma de mutaciones, rotura cromosómica e inestabilidad. La inestabilidad genómica promueve tanto el envejecimiento como el cáncer [39].

En apoyo del papel del medioambiente en la modulación de la eficiencia en la capacidad de reparación del DNA y del mantenimiento de la estabilidad genómica, se ha emitido la siguiente pregunta: ¿mejora la dieta hipocalórica la estabilidad genómica por aumentar la expresión y actividad de enzimas reparadoras del DNA? Para responder a esta pregunta es razonable proponer que el declinar en la capacidad de una célula u organismo para mantener la estabilidad de su genoma, es un mecanismo fundamental inherente al envejecimiento, estando la restricción dietética en el centro del retraso de la vejez y la prolongación de la vida mediante el mantenimiento de la integridad genómica. Esta hipótesis es atractiva si se considera que la integridad y la estabilidad del genoma es de vital importancia para una célula u organismo, porque el DNA está constantemente expuesto a agresiones exógenas y endógenas y porque las lesiones al DNA producidas por dichas agresiones se han asociado en sus últimas causas a mutaciones, que conducen al cáncer y a otras enfermedades asociadas a la vejez. Además, el mantenimiento de la integridad del DNA, por una serie de sistemas reparadores, es esencial para la supervivencia de las células y de los organismos. El acumulo de daño al DNA en células somáticas fue propuesto al principio como un mecanismo básico en el proceso del envejecimiento, emitiéndose la hipótesis que el acumulo de daño al DNA ocasionaba la inactivación de genes y la muerte celular. Esta hipótesis se amplió proponiéndose que el acumulo de DNA no reparado y las subsiguientes mutaciones en las células, son las causas que alteran la replicación y transcripción del DNA, que, a su vez, conducen al fenotipo senescente [39].

Estudios realizados en los últimos 50 años apoyan esta hipótesis al demostrar alteraciones en el metabolismo, mutaciones y daño al DNA, relacionadas con la edad. Muchas de estas alteraciones están aceleradas en el síndrome de Werner, y en enfermedades genéticas tales como los síndromes de Hutchinson, Gilford, Progeria y Cockayne, que muestran síntomas clínicos de envejecimiento prematuro e implican mutaciones en los genes de reparación del DNA. La restricción calórica se ha demostrado que revierte gran parte de estas alteraciones en el daño/reparación del DNA y en las mutaciones, al activar la capacidad de reparación del DNA, proporcionando un mecanismo implicado en la estabilidad genómica. Se ha demostrado que la escasez de alimento (sin deficiencia de nutrientes esenciales), ejerce un efecto positivo sobre las principales vías de reparación del DNA, tales como los sistemas de reparación por escisión de bases (BER), de reparación por escisión de nucleótidos (NER) y de reparación de la rotura de la doble cadena. La restricción calórica es una *intervención* que produce la activación de genes específicos de respuesta al estrés, y de enzimas clave de las vías de reparación del DNA, los cuales darán como resultado la mayor capacidad reparadora del DNA, reduciendo el daño al DNA y la frecuencia de mutaciones, lo cual mantiene la integridad del DNA. Por tanto, se demuestra, una vez más que la dieta hipocalórica, es un buen modelo para prevenir y retrasar el envejecimiento y la progresión de tumores espontáneos o inducidos por agentes químicos, por intervenir en la activación de las vías de reparación del DNA [39].

Recambio mitocondrial

La mitocondria, la maquinaria energética de la célula, que genera ATP y especies reactivas de oxígeno (ROS), es muy susceptible al deterioro. Como la mayoría de los com-

ponentes celulares tienen que ser reciclados y regenerados a lo largo de la vida, se necesita el continuo recambio mitocondrial, lo cual se lleva a cabo mediante un complejo proceso, la *biogénesis mitocondrial*. Las nuevas mitocondrias así generadas, mantienen la producción de energía, previenen del estrés oxidativo, y favorecen el envejecimiento saludable. Células y tejidos ante la demanda de mayor cantidad de energía responden fabricando nuevas mitocondrias. La biogénesis mitocondrial está influenciada por condiciones fisiológicas y energéticas en continuo cambio. No es de sorprender que factores tales como la disponibilidad de nutrientes, ciertas hormonas, la temperatura, hipoxia, estrés y envejecimiento, ejerzan influencia en el proceso de la mitocondriogénesis. Los cambios dependientes de la energía celular afectan a la función y el número de las mitocondrias e implican una compleja disposición de factores que conectan la energía con la regulación genética. En la complejidad de la biogénesis mitocondrial intervienen más de 1000 genes, la cooperación de los dos genomas (el mitocondrial y el nuclear) y la alteración del 20% de las proteínas celulares. En el núcleo, la regulación concertada de tantos genes requiere una serie de factores de transcripción capaces de orquestar la interacción del complejo RNA pol II con los varios promotores. Los genes nucleares, codifican más del 95% de las proteínas mitocondriales, mientras que el genoma mitocondrial es el que genera la mayoría de las proteínas hidrofóbicas de la cadena de transporte electrónico y también el tRNA y rRNA mitocondriales [23, 39].

Considerando que el efecto protector de las sirtuínas en células individuales está siendo cada vez más evidente, como mediadoras de los beneficios de la restricción calórica, cabe preguntarse: ¿cómo puede la dieta hipocalórica regular la actividad de las sirtuínas y el ritmo de envejecimiento en un animal completo? Recientes investiga-

ciones han demostrado en hepatocitos de animales en condiciones de ayuno, que los niveles de NAD^+ se elevan y con ello la actividad SIRT1. Entre las proteínas, SIRT1 actúa sobre el regulador y coactivador de la transcripción genética PGC-1 α , que causa cambios en el metabolismo de la glucosa e interviene en la biogénesis de las mitocondrias. De manera que SIRT1 actúa a modo de sensor de la disponibilidad de nutrientes, regulador de la respuesta hepática e interviene indirectamente en la biogénesis mitocondrial [40].

A nivel molecular varios factores de transcripción y cofactores intervienen en la activación de vías señalizadas inducidas por hormonas. Otro grupo de factores interviene en la adaptación metabólica al ayuno, como la familia de los receptores activados por los proliferadores de peroxisomas (PPAR) y el receptor X hepático, que junto con PGC-1 α elevan la biogénesis mitocondrial y el catabolismo de los ácidos grasos. A pesar de la complejidad de las diversas vías señalizadoras, todas ellas parece que comparten un componente clave de la familia PGC-1 de cofactores de transcripción. El PGC-1 α actúa también como mediador intracelular de la biogénesis mitocondrial inducida por factores hormonales. La restricción calórica promueve la sensibilidad a la insulina con la consiguiente reducción de la glucosa y la insulina en sangre. Su importancia fisiológica se apoya en el hecho de que la represión de PGC-1 α , por una forma mutante de la proteína Hungtintina, produce disfunción mitocondrial y neurodegeneración, mientras que la sobreexpresión de PGC-1 α rescata las células de los efectos deletéreos de la Hungtintina. Muchos agentes y eventos regulan los niveles de PGC-1 α activando diferentes mediadores intracelulares (Figura 6).

La proteína SIRT1 como reguladora de la gluconeogénesis hepática reprime la función de los genes glucolíticos.

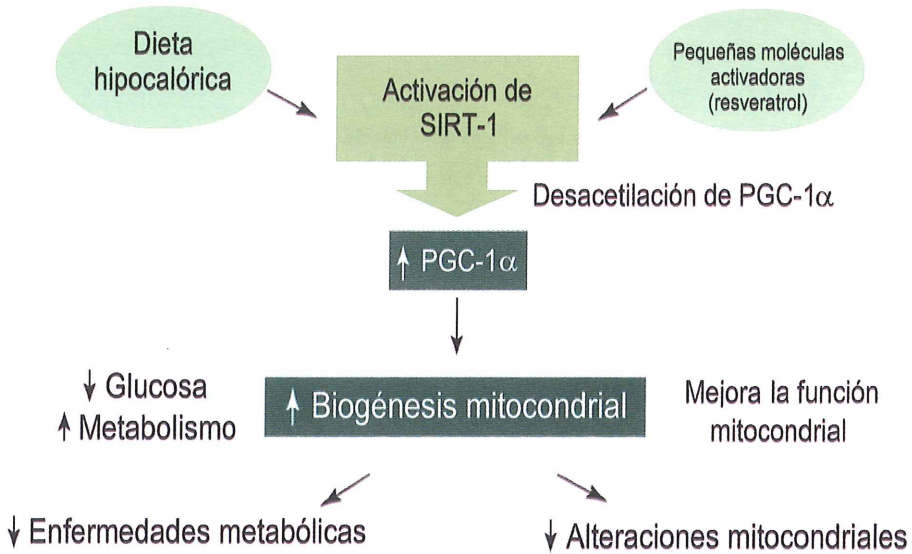


FIGURA 6. Activación de SIRT1 por la dieta hipocalórica o por pequeñas moléculas activadoras (resveratrol). SIRT1 desacetila el coactivador PGC-1 α , lo que conduce a la biogénesis mitocondrial, la cual puede ejercer un efecto terapéutico en varias enfermedades causadas por alteraciones metabólicas (diabetes tipo 2) o alteraciones mitocondriales (miopatía, encefalopatía, acidosis láctica, etc) [40].

La desacetilación de PGC-1 α en varios residuos de lisina por la proteína SIRT1 activa la transcripción de los genes gluconeogénicos, mediante interacciones con el factor nuclear hepato-cítico 4 α , que se asocian con la represión de los genes glucolíticos. Así, el incremento de SIRT1 durante la restricción calórica, interviene en la biogénesis de la mitocondria en tejidos tales como el músculo y tejido adiposo. También SIRT1 desacetila y activa la NOS (óxido nítrico sintasa), lo que indica que se establece un mecanismo «feedback» positivo entre NOS y SIRT1, que puede reajustar los niveles de SIRT1 durante la restricción calórica [23, 40].

Como se comentó anteriormente, SIRT1 actúa como regulador positivo de PGC-1 α mediante su desacetilación.

Una acetilasa, el complejo GCN5 acetiltransferasa es un factor implicado en la represión de PGC-1 α . La acetilación de PGC-1 α da lugar a una proteína transcripcionalmente inactiva. En la Figura 6 se muestra el esquema donde PGC-1 α después de ser desacetilado, se une al receptor nuclear y promueve la biogénesis mitocondrial. La mejora de la función mitocondrial con las nuevas mitocondrias, produce un descenso de la glucosa, eleva el metabolismo y disminuyen las alteraciones mitocondriales y las enfermedades metabólicas [41, 42].

Macroautofagia

La macroautofagia es un proceso catabólico cuya función incluye la degradación lisosómica y el reciclado de agregados proteicos demasiado voluminosos que no pueden ser procesados por el sistema ubiquitina proteosoma. También se eliminan por este mecanismo los patógenos intracelulares, proteínas lesionadas y orgánulos dañados que pueden generar especies reactivas de oxígeno. La macroautofagia puede actuar como supresor tumoral y como mecanismo que previene la degeneración neuronal. La pérdida de la autofagia conduce a neurodegeneración, enfermedad infecciosa, e inestabilidad genómica.

La alteración de la apropiada degradación de los desechos celulares, por medio de la autofagia o autodigestión, es otro de los aspectos que se encuentra implicado en el envejecimiento. Una característica común del envejecimiento celular es el acumulo de proteínas y orgánulos dañados. Estos acúmulos o depósitos tienen que ser eliminados porque son especialmente negativos en las células diferenciadas, como las neuronas o los miocardiocitos. La vía altamente conservada de la autofagia lisosómica es el mecanismo primario encargado de la degradación y reciclado

de estos desechos macromoleculares u organulares en la célula eucariota. La autofagia se ha implicado recientemente en la protección frente a muchas patologías y su interés es cada vez mayor en enfermedades asociadas al envejecimiento en humanos [43].

La macroautofagia y la autofagia mediada por carabinas, disminuye con la edad, lo que indica que la autofagia es un proceso clave en el envejecimiento. Apoyando esta hipótesis existen modelos de ratón con la autofagia alterada en los que el fenotipo de envejecimiento es dramático. En la misma dirección existen experimentos en los que se demuestra, que una de las vías mediante las cuales la restricción calórica retrasa el envejecimiento, se deba probablemente, a que los bajos niveles de insulina ejerzan una acción activadora de la autofagia [44].

La macroautofagia tiene lugar a niveles basales en muchas células y se activa en situaciones de estrés celular, tales como ayuno, radiación y estrés oxidativo. Descrita por primera vez en levadura, es el proceso en el que son degradados, tanto las proteínas de vida larga como los orgánulos viejos y dañados, incluidas las mitocondrias. Para ello, los productos celulares a desechar, son secuestrados dentro de estructuras de doble membrana conocidas como autofagosomas, que se fusionan con lisosomas en células de mamíferos, o con vacuolas en levadura, para degradar, mediante la acción de enzimas hidrolíticos los desechos celulares citosólicos antes citados, los cuales, una vez degradados son devueltos al citoplasma para ser reutilizados en procesos biosintéticos o generadores de energía. En la levadura se han identificado más de 16 genes conservados, requeridos para la autofagia. Un activador universal de la autofagia es la disminución en la disponibilidad de nutrientes (dieta restringida), y este estímulo ocurre, en parte, por inhibición de la señalización de TOR (factor de transcrip-

ción, objetivo de la rapamicina) [43, 44]. El exceso de glucosa induce la secreción de insulina, lo que induce la activación de TOR y la supresión de la autofagia. El exceso de glucosa, conlleva mayor glucolisis y disminución de NAD^+ , que causa un descenso en la actividad de la sirtuína y supresión de la autofagia. También la insulina conduce a la activación de TOR y suprime la autofagia. Por tanto, se puede esperar que en caso de resistencia a la insulina, no pueda activarse TOR, y se induzca la autofagia.

Aunque el acumulo de proteínas y orgánulos dañados es un signo de envejecimiento y de enfermedades asociadas, la conexión entre estos procesos es poco clara. La primera conexión entre autofagia y cáncer surgió de la observación de que el producto del gen *beclin 1* (*becn1*), un homólogo del gen de la autofagia de levadura *VPS30*, se une al oncogén humano *BCL2* (*B cell/lymphoma 2*), e inhibe la autofagia. Esto indica que en los tumores caracterizados por una mayor expresión de *BCL2*, su misión, al menos en parte, fue inhibir la autofagia. En ratones haplo-insuficientes que habían perdido una copia del gen *becn1*, desarrollaron tumores, lo que indica que la autofagia actúa como un importante supresor de tumores *in vivo*. En otros estudios se observó que en tumores malignos humanos donde el *locus becn1* suele estar deletado, varios supresores de tumores, incluyendo la fosfatasa homóloga de la tensina PTEN y p53, estimulan la autofagia [44]. En efecto, aunque la evidencia indica que los oncogenes inhiben la autofagia y que los supresores de tumores la estimulan, la conexión entre cáncer y autofagia permanece sin aclarar (Figura 7) [45].

Como se indicó anteriormente, la autofagia juega un papel protector en enfermedades neurodegenerativas tales como las de Parkinson y de Huntington, que son causadas por acumulo de proteínas mutadas, que se agregan en el

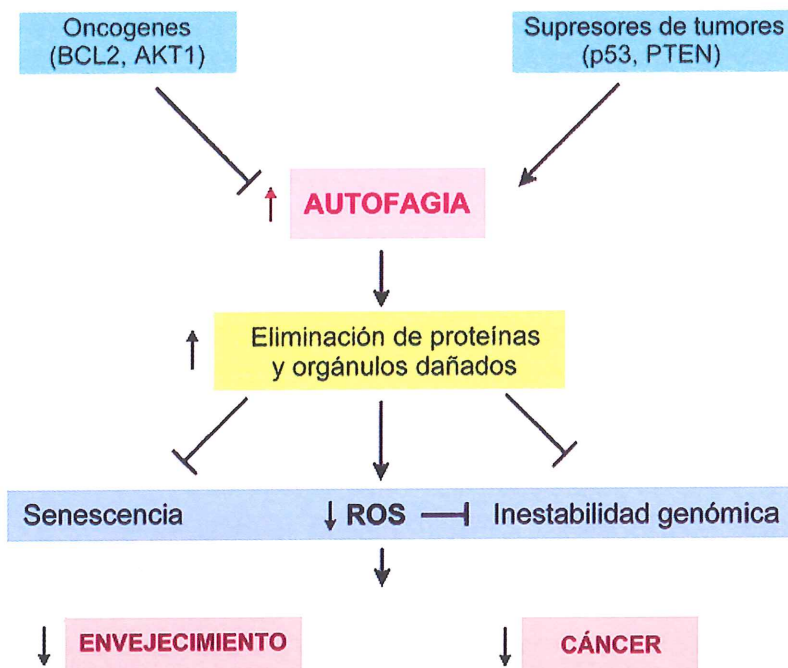


FIGURA 7. *Papel de la autofagia en envejecimiento y cáncer. La autofagia es un proceso regulado para la eliminación de proteínas y orgánulos dañados. Tiene lugar en condiciones basales y se estimula por factores ambientales tales como la dieta restringida. Las proteínas conectadas a la tumorigénesis pueden regular el ritmo de la autofagia, con productos de oncogenes que la bloquean y supresores tumorales que la estimulan. La eliminación de componentes celulares dañados, especialmente las mitocondrias, disminuye la generación de ROS, lo que a su vez, reduce la inestabilidad genómica y la senescencia celular. Tales mecanismos pueden permitir incrementos moderados en la autofagia para retrasar el envejecimiento y reducir la incidencia del cáncer [45].*

interior de las células e interfieren con el tráfico celular y la función normal de las proteínas citoplasmáticas. Estos agregados citoplasmáticos, de gran tamaño, tienen que ser eliminados por autofagia.

Estudios en gusanos y moscas han demostrado que el bloqueo de la autofagia disminuye la expectativa de vida, mientras que la sobreexpresión de los genes de la autofagia

la eleva. La proteína SIRT1 actúa como un regulador positivo de la autofagia inducida por la dieta restringida. La disponibilidad de nutrientes es el regulador mejor caracterizado de la autofagia, así que no sorprende que los componentes principales de la dieta, proteínas, grasas y carbohidratos, sean capaces de ejercer influencia sobre la autofagia. Muchos compuestos naturales que se encuentran en los alimentos, están siendo analizados por su efecto inductor de la macroautofagia. Entre estos se encuentra los siguientes: resveratrol, quercetina, curcumina, cafeína, vitamina C, etc [45].

Homeostasis de la insulina y la glucosa

Si las sirtuínas son las proteínas que gobiernan el control de un sistema regulador del envejecimiento y se activan en situaciones de estrés, han de funcionar también como conductoras de una orquesta que incluye redes hormonales, proteínas reguladoras y otras proteínas codificadas por los genes de longevidad. Uno de los descubrimientos recientes más notables es que SIRT1 regula la producción de *insulina* y del *factor de crecimiento insulínico* (IGF-1) y que estas dos poderosas moléculas señalizadoras regulan, a su vez, la producción de SIRT1. La relación entre SIRT1, IGF-1 e insulina explica como la actividad SIRT1 en un tejido puede comunicarse con otras células del organismo. Además, los niveles circulantes de insulina e IGF-1 dictan la expectativa de vida en los diversos organismos antes citados [34].

Un componente crítico de la fisiología de la dieta hipocalórica es el aumento de la sensibilidad a la insulina y la correspondiente disminución en los niveles sanguíneos de glucosa e insulina. Las células β pancreáticas ayudan a la homeostasis de la glucosa secretando insulina en respuesta

a glucosa. El metabolismo de la glucosa por glucolisis, genera piruvato, el cual entra en la mitocondria donde se convierte en CO_2 por el ciclo tricarboxilico. El NADH generado en este ciclo conduce el transporte electrónico y la síntesis de ATP. El incremento del cociente ATP/ADP produce el cierre de los canales K_{ATP} y despolariza la membrana plasmática lo que conlleva a un influjo de Ca^{2+} que desencadena la fusión de las vesículas secretoras que contienen insulina, en la membrana celular. Se ha demostrado en ratón que SIRT1 regula positivamente la secreción de insulina estimulada por glucosa en células β pancreáticas. Por tanto, SIRT1 reprime la transcripción de la proteína desacoplante mitocondrial UCP-2 (*uncoupling protein-2*), que desacopla la respiración mitocondrial de la producción de ATP y reduce el gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial. Así, bloqueando la función de UCP-2, SIRT1 promueve la generación de energía de manera más eficiente. La presencia de UCP-2 en animales ayunados, puede también facilitar la transición a la actividad metabólica después del siguiente alimento y prevenir la hiperpolarización de la membrana mitocondrial y la producción de ROS. Aunque estos estudios demuestran que la actividad SIRT1 disminuye en células β durante el ayuno, no se sabe si SIRT1 regula la secreción de insulina durante la dieta hipocalórica o juega algún papel en las patologías que muestran alterada la secreción de insulina (Figura 8) [21, 22, 34].

Existe la posibilidad que SIRT1 facilite la supervivencia de las células β pancreáticas durante el estrés oxidativo. En células β estresadas, la proteína forkhead FOXO1 se traslada al núcleo donde activa los factores de transcripción que proporcionan resistencia al estrés. Como se describió anteriormente, SIRT1 se une y regula a los factores de transcripción FOXO1 negativa y positivamente. Se ha demostrado que SIRT1 desacetila a FOXO1 y la activación de esta proteína proporciona resistencia al estrés [46].

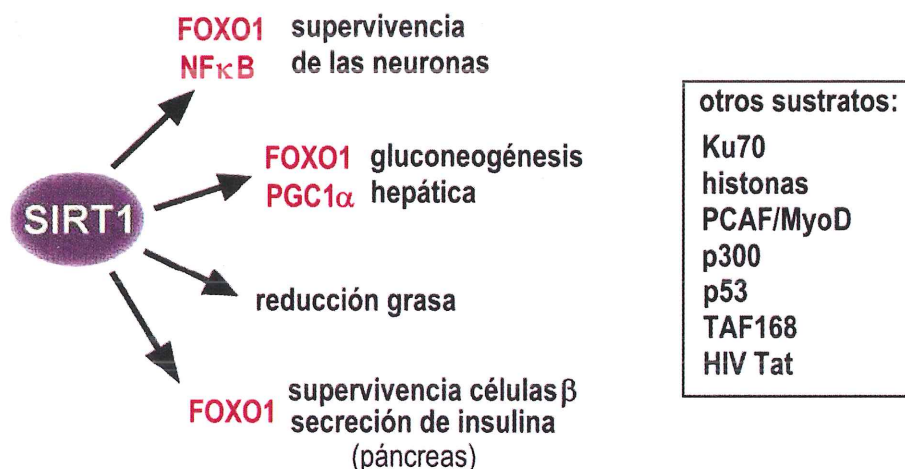


FIGURA 8. *SIRT1* regula la fisiología en mamíferos: la supervivencia de las neuronas, la gluconeogénesis hepática, la reducción grasa (lipólisis), la supervivencia de las células β y la secreción de insulina, al interactuar con una serie de proteínas. *SIRT1* interactúa con otros sustratos [22]

El mecanismo principal que se encuentra implicado en el efecto anti envejecimiento es la baja actividad GH/IGF1 y la respiración mitocondrial más eficiente, que ejerce sus efectos beneficiosos por la menor generación de ROS. Otro factor importante asociado a la menor actividad GH/IGF1 es la mejora del *síndrome metabólico*, la causa principal de la morbilidad del envejecimiento, que se asocia entre otros, con una resistencia a la insulina y elevados niveles sanguíneos de glucosa y lípidos [24]. Ratones con deficiente señalización insulínica tienen vida más larga. El concepto de mayor eficiencia metabólica, que se traduce en menor producción de ROS endógenos y mayor longevidad, puede aplicarse a la dieta hipocalórica y a la actividad NAD^+ desacetilasa de *SIRT1*. La importancia reguladora de *SIRT1* se traduce en la movilización de ácidos grasos en los adipocitos, producción de glucosa en los hepatocitos, secreción de insulina en las células β pancreáticas y oxidación de los ácidos grasos en músculo esquelético.

Lo anteriormente mencionado lleva a proponer que diversas manipulaciones genéticas, como la menor actividad señalizadora de GH/IGF y del receptor de la insulina, con la dieta hipocalórica, estrategias antioxidantes eliminadoras de las ROS, activación de la señalización por p53 y agentes que incrementan la reparación y estabilización del DNA, protegen las células del daño celular que las conduce al envejecimiento, a través del deterioro tisular, o al cáncer a través de la proliferación oncogénica (Figura 9) [47].

Por tanto, la actividad de las sirtuínas, inducida por la restricción calórica, se considera que es el mediador del incremento de la longevidad, que retrasa la vejez en todas

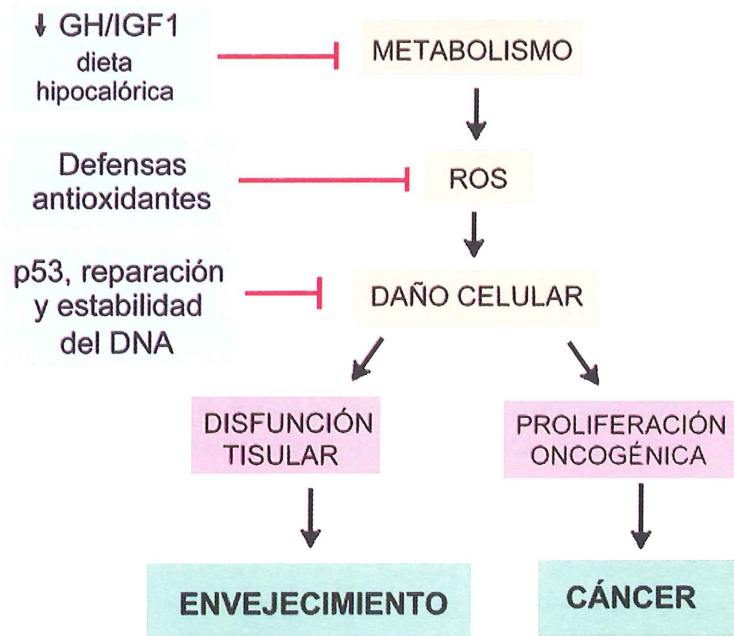


FIGURA 9. Los mecanismos que disminuyen la disfunción tisular y retrasan el envejecimiento, incluyen menor señalización de la hormona del crecimiento (GH) y del factor de crecimiento insulínico-1 (IGF1), la restricción calórica, defensas antioxidantes, p53 y agentes que incrementan la reparación y la estabilidad del DNA. [47].

las especies ensayadas. Las sirtuínas perciben la escasez de nutrientes por mecanismos no totalmente conocidos, pero entre los que se incluye la abundancia del NAD⁺, necesaria para la actividad de SIRT1 y para la activación transcripcional del gen *Sirt1*, por un complejo formado por los factores de transcripción FOXO y p53. La dieta hipocalórica hace que SIRT1 desencadene un programa metabólico mediado, en parte, por la asociación de SIRT1 con el coactivador de la transcripción PGC-1 α , lo que da lugar a mayor eficiencia metabólica y a menor generación de ROS [47].

Terapia regenerativa. Células madre y factores sistémicos

Muchas de las situaciones asociadas a la edad, tales como la menor capacidad regeneradora de los tejidos, parecen estar determinadas por un declinar progresivo del potencial de las células madre adultas para mantener la homeostasis tisular. Aunque es obvio que el genotipo determina el promedio de la longevidad máxima de las diferentes especies, la variación en la expectativa de vida de cada individuo en una misma especie, se debe al acumulo a lo largo del tiempo de errores moleculares que comprometen la función de las células madre. Estas alteraciones moleculares pueden verificarse a nivel genético y epigenético y dependen de factores hereditarios, ambientales y estocásticos. Esta mezcla multifactorial compleja, determina una vida y longevidad saludables, que concierne a la existencia humana.

Los numerosos estudios que se llevan a cabo en la actualidad en células madre han proporcionado suficientes argumentos que muestran un futuro prometedor en tratamientos para paliar o evitar los efectos adversos del envejecimiento. Estos tratamientos pueden ser de gran utilidad y

eficacia en la reparación de tejidos lesionados, en el tratamiento de enfermedades degenerativas y en general para prevenir la disminución de las funciones de la edad avanzada. Es importante investigar si el envejecimiento es la causa o la consecuencia de las alteraciones en las células madre.

Las células madre adultas o somáticas residen en los tejidos y su misión es la renovación celular. En tejidos con un elevado recambio (sangre, piel e intestino), esta renovación celular es continua, mientras que en tejidos con recambio más bajo (hígado cerebro y músculo), las células madre sirven como reservorio para el reemplazo celular gradual. Es un hecho reconocido que la funcionalidad de las células madre, como la de otras células, decrece con la edad, pero es necesario conocer en profundidad, hasta qué grado los trastornos de la edad influyen sobre la función de las células madre.

La menor capacidad regeneradora y renovadora en la mayoría de los tejidos, que se asocia al envejecimiento, se debe a una combinación de cambios, que va a impedir que dichas células madre ejerzan su función de participación en el mantenimiento y reparación de los tejidos. En el músculo esquelético de animales adultos, donde las células madre residentes, denominadas *células satélite*, son capaces de regenerar de manera rápida y efectiva el tejido muscular en respuesta a cualquier lesión, existe una progresiva y ostensible pérdida del potencial regenerativo a medida que transcurre la edad de los animales. La activación de las células satélite y la determinación del destino celular se encuentran controlados por vía de la señalización NOTCH, que se activa por unión con su ligando Delta, cuya expresión se desencadena de manera rápida en respuesta a cualquier lesión. En músculo de animales viejos la expresión del factor Delta está notablemente disminuida lo cual afecta en gran manera al funcionamiento de la vía NOTCH y al potencial regenerativo de

las células satélites. Experimentos de Conboy y Rando [48, 49] han demostrado, que si se induce indirectamente la actividad de la vía NOTCH, se puede restaurar la función regeneradora de las células satélite. Esta inducción se ha conseguido mediante la exposición de las células satélite de ratones viejos a suero de ratones jóvenes, bien *in vivo* por emparejamiento parabiótico heterocrónico (circulación compartida), de un ratón viejo con un ratón joven, o *in vitro*, mediante la adición de suero de ratones jóvenes al medio de cultivo de células de ratón viejo. De esta manera se ha observado que algún componente existente en el suero de animales jóvenes, y no en el de ratones viejos, activa la vía NOTCH y con ello la respuesta proliferativa de las células satélite, y se consigue un rejuvenecimiento del animal viejo o de las células en cultivo procedentes de animales viejos, a expensas del plasma de ratones jóvenes. Estos resultados han llevado a la conclusión que el potencial regenerativo persiste en las células satélite, las cuales a pesar del envejecimiento no han perdido su capacidad de participar en el mantenimiento y reparación del tejido muscular, capacidad que recupera al contacto con factores séricos presentes en el animal joven. Por tanto, el que las células madre musculares de animales viejos sean capaces ejercer su misión de mantenimiento y reparación de los tejidos de animales viejos y mantengan su capacidad regeneradora intrínseca, lo proporciona un medio ambiente óptimo, en el que la vía NOTCH sea operativa.

Otros experimentos han puesto de manifiesto que las células madre musculares o células satélite de animales viejos, tienden a transformarse en linaje fibrogénico, lo que las hace perder progresivamente su función renovadora. Basándose en esta observación Brack y colaboradores han demostrado que este cambio está mediado por factores en el ambiente sistémico de los propios animales viejos y se asocia con la activación de la vía señalizadora Wnt, por

componentes de la familia de proteínas Frizzled, presentes en el suero de los animales viejos, que se unen a receptores WNT. Estos resultados indican que en la transformación de las células satélites, dependiente de la edad, juega un papel crítico la vía señalizadora Wnt, cuya activación puede ser suprimida por inhibidores específicos de Wnt [50].

El declinar del potencial regenerativo en hígado de rata con la edad ha sido demostrado por experimentos de Nuria Sanz, en mi grupo, en el proceso de regeneración hepatocelular postnecrótica inducida por efecto de fármacos [51-52]. Sobre la base de este declinar, el grupo de Conboy ha observado que la menor proliferación de las células progenitoras hepáticas (el propio hepatocito), se debe a la formación de un complejo formado entre la proteína de unión a CCAAT (cEBP α) y el factor remodelador de la cromatina Brm. Para examinar la influencia de los factores sistémicos sobre el hepatocito, estos autores realizaron el experimento de circulación compartida, antes citado, exponiendo ratones viejos a factores presentes en suero de ratones jóvenes. También en este caso se elevó la proliferación de los hepatocitos y se restauró el complejo cEBP/Brm a los niveles presentes en animales jóvenes. Estos resultados en hígado, y los anteriores en músculo esquelético indican que el declinar de la actividad proliferativa de las células progenitoras se modula por factores sistémicos que cambian con la edad [49].

Los experimentos antes citados demuestran la existencia de factores en suero capaces de modular las vías señalizadoras críticas para la activación de las células madre tisulares y que el medio ambiente sistémico de un animal joven posee esos factores que son los que promueven la activación del potencial proliferativo de las células madre, mientras que el de los animales viejos, al carecer de ellos fracasa. Es importante identificar los factores que ejercen tal influen-

cia crítica sobre las células madre adultas específicas de los tejidos, ya que las células madre de animales viejos retienen su potencial proliferativo intrínseco. Son los cambios en el medio ambiente sistémico del nicho en el que las células madre residen, los que evitan o entorpecen la activación de esas células para la renovación y regeneración tisular.

En los estudios anteriores se encuentran las bases de la *Terapia Regenerativa* frente al envejecimiento. Las células madre (células satélite o hepatocitos), no han sufrido merma alguna en su capacidad proliferativa intrínseca, es el ambiente que las rodea el que resulta afectado por el envejecimiento, ya que se ha demostrado en un caso, que el suero carece de algún factor necesario para su activación, y en el otro, que se produce algún factor que las modifica. Encontrar esos factores es lo que se tiene que conseguir para paliar los efectos adversos de la edad avanzada. Esta parte de la medicina se refiere a nuevas terapias para el reemplazo o restauración de las células perdidas, lesionadas o envejecidas en el organismo, y ha de explorar de qué manera se mantiene latente la actividad intrínseca de proliferación celular de las células madre adultas específica de los tejidos.

Terapia preventiva. MicroRNA

Hasta la fecha se han investigado muy poco los acontecimientos celulares de los sistemas biológicos regulados por acción de los miRNA, relacionados con el envejecimiento. Sin embargo, el estudio del control que ejercen los miRNA en la senectud parece enormemente prometedor. Boehm y Slack [53] han encontrado en el gusano *C. elegans*, que reduciendo la actividad del miRNA lin-4 se disminuye la expectativa de vida y viceversa. Además, ha demostrado también que lin-4 regula la vía señalizadora

IGF (factor de crecimiento insulínico), vía esencial para determinar la expectativa de vida. Este estudio proporciona una base para futuros trabajos encaminados al conocimiento de los cambios en la expresión de otro miRNA let-7, también relacionado con la senectud, ya que se ha demostrado que muchos miRNA pueden ser esenciales para prevenir las enfermedades típicas del envejecimiento. Un ejemplo de tal propuesta ha sido ya realizado por Ibáñez-Ventoso y colaboradores [54], quienes, de los 114 miRNA identificados, alrededor de 50 muestran cambios de expresión (disminución), que se inician a partir de la mediana edad. Los objetivos de estos 50 miRNA incluyen la vía de la insulina, la determinación de la longevidad y la función muscular.

En una sociedad que está experimentando un acelerado incremento de la vejez de la población, es de urgente necesidad dirigirse a los problemas del envejecimiento con nuevas estrategias que traten de detectarlos y combatirlos en estados incipientes para evitar el desarrollo de enfermedades asociadas a esta etapa de la vida. Se está intentando llamar la atención respecto a que ya en la madurez comienzan a iniciarse síntomas relativos a la disminución de la salud celular, que puede implicar un cambio programático universal o específico en el sistema del control de la señalización. Este declinar, en etapas previas a la senectud, aunque todavía sub-clínico y asintomático, puede precipitar a un riesgo incrementado de enfermedades en el último período de la vida. El control en los inicios del declinar celular, puede estar gobernado por este grupo de especies moleculares, de reciente descubrimiento, los miRNA, pequeños RNA de unos 22 nucleótidos. Los miRNA por ellos mismos no codifican proteínas, pero regulan negativamente la expresión de determinados genes, bien degradando su mensaje o inhibiendo su traducción por unión a su región 3' no traducible (UTR). Así, la posible alteración de estos

reguladores negativos de la expresión genética, en etapas previas a la edad avanzada, puede ser una llamada de atención a la alteración molecular en la señalización celular individual, que en un momento ha de conducir a una amplia disfunción tisular. El papel potencial que los miRNA pueden jugar en el equilibrio bioquímico es importante, ya que la pérdida de este equilibrio contribuye a muchos de los fenotipos del envejecimiento. Un reto para futuras investigaciones es identificar estos miRNA con el objeto de desarrollar terapias para combatir los primeros signos de senectud, lo que supone una clase de terapia, *la terapia preventiva*, que puede retrasar o combatir el riesgo de enfermedades de la vejez. Esta terapia preventiva ha de añadir una mayor calidad de vida a la senectud lo cual ha de tener gran repercusión a nivel social y económico [55].

Es un hecho frecuentemente ignorado, que la mayoría de los problemas dependientes de la edad tienen sus comienzos en la edad madura. Estos comienzos se pueden detectar en células individuales o en pequeños grupos de células sin manifestaciones fenotípicas apreciables. Sin embargo, estos inicios funcionan a modo de semillas implantadas que se desarrollarán posteriormente en la vejez. La medicina preventiva tiene que estudiar el envejecimiento desde este nuevo punto de vista tratando de resolver los problemas al principio y no al final. Los rápidos avances científicos relativos al envejecimiento, como también los progresos recientes en la biología de las células madre, cicatrización de las heridas, regeneración hepática y muscular, defensa frente a la infección, biología de los miRNA y los avances tecnológicos en genómica, proteómica nanotecnología etc, suponen un gran apoyo y muestran que con este arsenal científico, se pueden emplear estrategias de intervención y tomar medidas predictivas y preventivas, para evitar en lo posible aquellas terribles enfermedades degenerativas de la senectud.

Perspectivas futuras y conclusiones

En el pasado siglo, la longevidad media de la población se ha elevado de manera notable, merced a los avances en la salud pública, a la disminución de las enfermedades infecciosas, y a la mejora en los tratamientos de las enfermedades crónicas. En España el promedio de esperanza de vida se ha elevado desde los 58 hasta superar los 80 años. Muchos de estos logros se han conseguido retrasando la mortalidad del cáncer y de las enfermedades del corazón, cerebro. Aunque en los países desarrollados la mayoría de individuos con 70 y más años disfrutan de una vida sana e independiente, la sociedad soporta un alto costo debido a las elevadas necesidades de la población que sufre los trastornos del envejecimiento.

Los organismos multicelulares exhiben un declinar progresivo e irreversible de las funciones fisiológicas, que es característico de la senectud. Aunque las bases moleculares de este declinar no se conocen aún en su totalidad, los mecanismos hasta ahora propuestos incluyen una incremento en la generación de ROS y una progresiva acumulación de lesiones en el DNA, que van a dar lugar a inestabilidad genética y a alteraciones epigenéticas. Todo ello lleva consigo el deterioro oxidativo de macromoléculas críticas, la glicación de proteínas constitutivas y el acortamiento de los telómeros de células replicativas.

El mantenimiento de la actividad mitocondrial es un factor clave en la prevención de la progresión de enfermedades asociadas a la edad. La activación de los componentes reguladores de la biogénesis mitocondrial, emergen como un campo prometedor de investigación para tratar de ampliar la calidad de vida en la población envejecida. El mantenimiento de un estilo de vida activo y una dieta moderada en calorías son el medio de mantener la activi-

dad mitocondrial y la viabilidad celular a lo largo de la vida. El uso de fármacos antioxidantes, tales como el resveratrol, puede afectar positivamente el envejecimiento saludable.

Uno de los sueños de la humanidad ha sido detener el envejecimiento lo cual se ha intentado sin éxito. Incluso hoy es difícil de aceptar que la edad pueda ser controlada manipulando una serie de genes, sin embargo, se sabe que es posible prevenir los achaques de la vejez con un simple cambio en la dieta, y también que los genes que codifican las sirtuínas controlan las mismas vías moleculares que la dieta hipocalórica. Sin que se conozcan la multitud de causas precisas del envejecimiento, ya se ha demostrado en una amplia variedad de formas de vida, que los efectos adversos de la edad pueden ser retrasados o evitados manipulando unos pocos reguladores, que una vez activados van a cuidar de la salud del organismo y promover la longevidad.

Vivir muchos años con calidad de vida o lo que es lo mismo, morir joven lo más tarde posible, es la meta de todo ser humano. Los grandes adelantos de la ciencia médica y la terapéutica, han permitido controlar las enfermedades, que roban la salud y conducen a la muerte. Alcanzar una longevidad saludable y activa está al alcance de todos. Hay que aprender a calcular la edad biológica y tratar de invertir los marcadores del envejecimiento. Es importante conocer la manera de retrasar los aspectos indeseables de la senectud, con sencillos cambios en la alimentación y estilo de vida, que van a permitir lograr la longevidad en óptimas condiciones de salud mental y física, lo cual permitirá desarrollar a plenitud la potencialidad humana y conseguir una saludable vida longeva.

Señor Presidente
Señoras y señores Académicos
Señoras y señores

Decía Rochefoucauld que «poca gente domina el arte de saber envejecer». Por suerte, cada día abundan más las personas de edad con espíritu y actitudes dinámicas y de esperanza, que son conscientes de que la peor vejez es la del espíritu. Las claves para una vejez plena, que al mismo tiempo son las pautas para saber vivir en la madurez, son las siguientes: 1. Tener siempre un proyecto para mañana, ya que quien tiene un porqué para vivir encontrará casi siempre el cómo; 2. Realizarse plenamente como ser social y tratar de compartirlo todo; y 3. Capacidad de concentrarse en los aspectos más positivos de la vida, eliminando pensamientos derrotistas, odios, rencores y preocupaciones.

Vejez y longevidad saludable no siempre van de la mano. Hemos visto que los marcadores de la edad biológica, van a permitir diseñar terapias personalizadas preventivas y regenerativas, para hacer saludable la vejez, lo cual ha de tener un gran impacto social y permitirá flexibilizar la edad de la jubilación, para hacer posible que, en base a la preferencia y capacidad de cada individuo, aquellos que se encuentren en buenas condiciones de salud física y mental, puedan elegir seguir en activo y no ser una carga para la sociedad. Además, España no puede permitirse el lujo de prescindir de una población aún provechosa en continua expansión, que percibe una jubilación que en la mayoría de los casos no le cubre las mínimas necesidades vitales, sin otra preocupación que la de pensar en sus achaques, que muchas veces son producto del puro aburrimiento, aislamiento y soledad.

Ya es hora que la sociedad, en vez de lamentarse tanto de lo que cuesta mantener a la población jubilada, convoque a aquellas personas saludables y activas de esta población para utilizar el potencial de sus conocimientos, experiencia, aptitudes y dedicación en la programación del futuro tan incierto al que nos enfrentamos. No se puede discriminar por la edad, a una población todavía útil para el bien común, cuya actividad puede cubrir muchas de las deficiencias que sufre hoy nuestra sociedad. He dicho.

Abreviaturas

AGE, productos terminales de glicosilación avanzada; AKT, quinasa; BER, reparación por escisión de bases; ERC, círculos de rDNA extracromosómicos; FOXO, factor de transcripción; GH, hormona del crecimiento; IGF1, factor de crecimiento insulínico; NFκB, factor nuclear kappa B; NAD⁺, nicotinamida adenina dinucleótido oxidado; NADH, nicotinamida adenina dinucleótido reducido; NAMPT, nitotinamida fosforibosil transferasa; NER, reparación por escisión de nucleótidos; NO, óxido nítrico; NOS, óxido nítrico sintasa; p53, proteína supresora de tumores; OXPHOS, fosforilación oxidativa; PGC1α, coactivador transcripcional de genes nucleares; PNC1, nicotinamidasa, proteína que elimina la nicotinamida convirtiéndola en ácido nicotínico; Pol I, RNA polimerasa; PPAR, receptores activados por proliferadores de peroxisomas; PTEN, fosfatasa homóloga de la tensina; rDNA, DNA ribosómico; ROS, especies reactivas de oxígeno; rRNA, RNA ribosómico; SIR2, sirtuína de levadura; SIRT, sirtuínas de mamíferos, desacetilasas dependientes del NAD; tRNA, RNA de transferencia; UPC, proteína desacoplante mitocondrial.

Agradecimientos

Mi profundo reconocimiento a los Académicos Doctores **Evangelina Palacios Aláiz** y **Pedro García Barrero** por sus sugerencias y su inestimable ayuda en la revisión del manuscrito. También agradezco de manera muy especial la colaboración prestada por doña **Adoración Urrea Salazar** en la búsqueda de la bibliografía y en la realización del ajuste electrónico de las figuras.

Bibliografía

1. Harman D (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 11, 298-300.
2. Cascales M (1999) Estrés Oxidativo, Envejecimiento y Enfermedad. Instituto de España. Madrid.
3. Boticario C y Cascales M (eds) (2009) Restricción calórica y envejecimiento. En ¿Porqué tenemos que envejecer? pp 277-307. UNED Plasencia
4. Cascales M (2009) Dieta hipocalórica y longevidad. *Anal Real Acad Nnal Farm* 75, 273-301.
5. Cascales M, Cabezas JA y García-Barreno P (eds) (2003) Bioquímica y Fisiopatología del Envejecimiento. Real Academia Nacional de Farmacia/Instituto de España. Madrid.
6. Barja (ed) (1998) El programa del envejecimiento. Akal. Madrid.
7. Barja G (1998) Envejecimiento normal, enfermedades degenerativas y cáncer. En: El problema del envejecimiento (Barja G, ed) Akal, Madrid.
8. García Barreno P (2005) Cómo y por qué envejecemos. El reto de una longevidad sana. *Rev Real Acad CC*, 99, 27-47.
9. García-Barreno P y Portera-Sánchez A (eds) (2001) La naturaleza del Envejecimiento. Instituto de España. Madrid.
10. Speakman J (2005) Body size, energy metabolism and lifespan. *J Exp Biol* 2008, 1717-1730.
11. Barja de Quiroga G y Herrero (2000) Oxidative damage to mitochondrial DNA is inversely related to maximum life span in the heart and brain of mammals. *FASEB J* 14, 312-318.

12. Alonso-Fernández P. y de la Fuente M (2008) Marcadores inmunológicos del envejecimiento. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 43, 167-179.
13. De la Fuente M y Miquel J (2009) An Update of the Oxidation-Inflammation Theory of Aging: Involvement of the Immune System in the Oxi-Inflamm-Aging *Current Pharmaceutical Design*, 15, 3003-3026.
14. Golden TR, Hubbard A, Dando C, Herren MA, Melov S (2008). Age-related behaviors have distinct transcriptional profiles in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 7, 850-86.
15. Fraga M (2009) Genetic and epigenetic regulation of aging. *Current Opinion in Immunology* 21, 1-8.
16. Kuningas M, Mooijaart SP, van Heemst D *et al* (2008) Genes encoding longevity: from model organisms to humans. *Aging Cell* 7, 270-280.
17. Sinclair DA y Guarente L (1997) Extrachromosomal rDNA circles-A cause of aging in yeast. *Cell* 91, 1033-1042.
18. Imai S, Armstrong CM, Kaerberlein M y Guarente L (2000) Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase. *Nature* 403, 795-800.
19. Lin SJ, Defossez PA y Guarente L (2000) Requirement of NAD and SIR2 for life span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 289, 2126-2128.
20. Chen D y Guarente L (2007) SIR2: a potential target for calorie restriction mimetics. *Trends Mol Med* 13, 64-71.
21. Bordone L y Guarente L (2005) Calorie restriction, SIRT-1 and metabolism: understanding longevity. *Nat Rev Mol Cell Biol* 6, 298-305.
22. Haigis MC y Guarente L (2006) Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging and calorie restriction. *Genes & Dev* 20, 2913-2921.
23. Guarente L (2008) Mitochondria - A nexus for aging, calorie restriction and sirtuins. *Cell* 132, 171-176.
24. Guarente L (2006) Sirtuins as potential targets for metabolic syndrome. *Nature* 444, 868-874.
25. McCay CM y Crowell MF (1934) Prolonging the life span. *Sci Month* 39, 405-414.
26. Weindruch R, Walford RL, Fligiel S y Guthrie D (1986) The retardation of aging in mice by dietary restriction: Longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr* 116, 654.
27. Masoro EJ (1990) Assesment of nutritional components in prolongation of life and health by diet. *Proc Soc Exp Biol Med* 193, 31-34.
28. Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC *et al.*, (2009) Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus nonkeys. *Science* 325, 201-204.

29. Hipkiss AR (2008) Energy metabolism, altered proteins, sirtuins and ageing: converging mechanisms? *Biogerontology* 9, 49-55.
30. Revollo JR, Grim AA, Imai S (2004) The NAD biosynthesis pathway mediated nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *J Biol Cell* 279, 50754-50763.
31. Imai S (2007) Is Sirt a miracle for longevity? *Aging Cell* 6, 735 -737.
32. Pamplona R y Barja G (2006) Mitochondrial oxidative stress, aging and caloric restriction: the protein and methionine connection. *Biophys Biochim Acta* 1757, 496-508.
33. López-Torres M y Barja G (2008) Lowered methionine ingestión as responsible for the decrease in rodent mitochondrial oxidative stress in protein and dietary restriction possible implications for humans. *Biochim Biophys Acta* 1780, 1337-13347.
34. Longo VD (2008) Linking sirtuins, IGF-1 signaling and starvation. *Exp Gerontol* 44, 70-74.
35. Minor RK, Chang JW y de Cabo R (2009) Hungry for life: How the arcuate nucleus and hemopeptide Y may play a critical role in mediating the benefits of caloric restriction. *Mol Cell Endocrinol* 299, 79-89.
36. Lagouge M, Argman C, Gerhart-Hines Z *et al*, (2006) Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC1 α . *Cell* 127, 1109-1122.
37. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, *et al*, (2006) Resveratrol improves health and survival of mice on a high calorie diet. *Nature* 444, 337-342.
38. Berger JL, Kayo T, Vann JM *et al.*, (2008) A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retard aging parameters in mice. *PLoS ONE*, 3, e2264.
39. Heydari AR, Unnikrishnan A, Ventrella Lucente L, y Richardson A. (2007) Caloric restriction and genomic stability. *Nucleic Acids Research* 35, 7485-7496.
40. López-Lluch G, Irusta PM, Navas P y de Cabo R (2008) Mitochondrial biogenesis and health aging. *Exp Gerontol* 43, 813-819.
41. Whittle JR, Powell MJ, Popov VM, *et al.* (2007) Sirtuins, nuclear hormonal receptor acetylation and transcriptional regulation. *Trends Endocrinol Metab* 18, 356-364.
42. Rodgers JT, Lenin C, Haas W, *et al.* (2005) Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α y SIRT1. *Nature* 434, 113-118.
43. Bergamini E, Cavallini G, Donati A y Gori Z (2007) The role of autophagy in aging: its essential part in the aging mechanisms of caloric restriction. *An NY Acad Sci* 1114, 69-78.

44. Hanigan AM y Gorski SM (2009) Macroautophagy. *Autophagy* 5, 140-151.
45. Finkel T, Serrano M y Blasco MA (2007) The common biology of cancer and ageing. *Nature* 448, 767-774.
46. Greer EL y Brunet A (2005) FOXO transcription factors at the interface between aging and tumor suppression. *Oncogene* 34, 7410-7425.
47. Serrano M y Blasco MA (2007) Cancer and ageing: convergent and divergent mechanisms. *Nature Rev Mol Cell Biol* 8, 715-722.
48. Conboy IM y Rando TA (2005) Aging, stem cells and tissue regeneration: lessons from muscle. *Cell Cycle* 4, 407-410.
49. Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, Girma ER, Weissman IL y Rando TA (2005) Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature* 433, 760-764.
50. Brack AS, Conboy MJ, Roy S, Lee M, Kuo CJ, Keller C, Rando TA (2005) Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis. *Science* 317, 807-810.
51. Sanz N, Díez-Fernández C. y Cascales, M. (1998) Aging delays the post-necrotic regeneration of liver function. *Biofactors* 8, 103-109.
52. Sanz, N., Díez-Fernández, C., Alvarez, A., Fernández-Simón, L., & Cascales, M. (1999) Age-related changes on experimentally-induced liver injury and regeneration. *Toxicol & Appl Pharmacol* 154, 40-49.
53. Boehm M y Slack A (2005) A developmental timing microRNA and its target regulate lifespan of *C. elegans*. *Science* 296, 2141-2142.
54. Ibañez-Ventoso C, Yang M, Guo S *et al.*, (2006) Modulated microRNA expression during adult lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 5, 235-246.
55. Bates BJ, Liang R, Li N y Wang (2009) The impact of noncoding RNA on the biochemical and molecular mechanisms of aging. *Biochim Biophys Acta* (pub ahead of print).