



¿Se puede curar la vejez? ¿Cómo se puede mantener la juventud? Sesión científica celebrada el 1 de diciembre de 2016



María Cascales Angosto
Coordinadora de la sesión
Sesión celebrada el 1 de diciembre de 2016
e-mail: cascales1934@gmail.com

ORDEN DEL DÍA

Introducción:

Excma. Sra. Dña. María Cascales Angosto
Académica de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

Ponentes:

“La ciencia reta al envejecimiento: hacia un futuro sin enfermedad”

Dra. María Blasco
Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas

“Edad cronológica y edad biológica”

Dra. Mónica de la Fuente
Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre de Madrid

“Envejecimiento y reprogramación epigenética”

Dr. Manel Esteller Badosa
Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL)

“El sistema de regulación celular del envejecimiento”

Dr. Gustavo Barja
Departamento de Fisiología Animal-II, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid

Introducción

María Cascales Angosto

La respuesta socio-económica y sanitaria al rápido envejecimiento demográfico, supone uno de los grandes desafíos del siglo XXI. La esperanza de vida, que en España ha aumentado en el siglo XX desde los 40 hasta más de los 80 años, es un fenómeno que no se puede detener, que afecta a la mayoría de países y que trae consigo un aumento progresivo de la población con más edad. Se calcula que en 2050 la población con más de 80 años superará los 400 millones, lo que traerá consigo enormes problemas para la sociedad. Para paliar estos problemas están surgiendo estudios para retrasar o revertir el fenotipo senescente. Así, un conocido gerontólogo británico, propone siete estrategias para superar la vejez. También el alargamiento de los telómeros así como la tan recomendada restricción calórica, dan las pautas para conseguir una vejez saludable y con la mejor calidad de vida. Por último, estudios en modelos de parabiosis están consiguiendo demostrar que existen factores sistémicos que nos pueden rejuvenecer.

HACIA DÓNDE VAMOS

Cómo «curar» las enfermedades asociadas a la vejez. Cómo detener los achaques del envejecimiento, que causan un grave problema social y familiar. Cómo aumentar los años de vida saludable

EL REJUVENECIMIENTO es un tema que aparece cada día en los medios, noticias en la red, prensa Radio y TV, y así nos encontramos con una gran cantidad de información entre la que voy a citar unos cuantos ejemplos:

- *Longevity and evolution*, libro escrito recientemente por Gustavo Barja de Quiroga
- *Morir Joven a los 140 años*, libro publicado por María Blasco que salió a la luz el pasado mes de abril
- *El Dr Esteller* en una reciente entrevista que he encontrado en la red nos confirma que morimos con el mismo DNA con el que nacemos y que las enfermedades de la vejez tienen un componente epigenético que se puede revertir.
- Vyss Coray de la Universidad de Stanford, en la conferencia que pronunció en junio de este año, en la Fundación Severo Ochoa en la UAM, habló de la existencia de factores sistémicos responsables del rejuvenecimiento, que ya están siendo una realidad... por último
- **CALICO** (California Life company) ahora Alphabet es una empresa biotecnológica creada por Google en 2013 con un objetivo claro: luchar contra el **envejecimiento** humano, y en última instancia, “curar” la **muerte**. Calico ya ha presentado un fármaco experimental P7C3 potenciador de la nicotinamido fosforibosil transferasa, que biosintetiza el [nicotinamido adenina dinucleótido](#). P7C3 y se ha demostrado beneficioso en modelos animales de neurodegeneración.

Toda esta información y más, nos lleva a considerar que lo que buscamos es frenar y detener la vejez, única forma de conseguir una verdadera calidad de vida eliminando las enfermedades degenerativas. Sabemos que existen factores en la célula que señalizan para el envejecimiento. Si los eliminamos, cosa que se está logrando ¿No estamos acercándonos a la idea de la eterna Juventud?

¿Qué soluciones podemos aportar hoy?

- **Terapia génica:** este es un tema muy discutido, aunque ya hay un caso aislado con resultados comprobados, el de Liz Parrish estadounidense que se ha inyectado el gen de la telomerasa y el de la folistatina. En un reciente reportaje ella misma confirma su satisfacción ante el alargamiento de sus telómeros, con lo que ha conseguido rejuvenecer 20 años.

- **Restricción calórica de la dieta:** Comprobada en levaduras, gusanos y ratones y prueba de ello son los habitantes de Okinawa quienes siguen a pie juntillas el principio de Confucio de “evitar comer hasta saciarse”, y con una dieta de frutas, verduras, hierbas, té, algas y pescado, poca carne y nada de leche ni azúcar, han conseguido tener más centenarios con calidad de vida que en ninguna otra parte del mundo

- **Factores sistémicos:** Se sabe que las células madre no envejecen, lo que envejece es el medio ambiente que las rodea. Este tema apasionante está en estudio ya con algún resultado positivo

Además de todo lo dicho, hay otro hecho evidente: cada persona envejece a un ritmo diferente, es decir cada uno tiene su edad biológica que puede coincidir o no con su edad cronológica.

Mónica de la Fuente ha desarrollado análisis que determinan parámetros del sistema inmune que nos indican cómo va nuestro envejecimiento. Esta es otra realidad más

Ante estas investigaciones de tanta repercusión en la población a la que pertenecemos, la Real Academia Nacional de Farmacia se ha hecho eco de este problema que considera del mayor interés científico, sanitario, social y familiar, y hoy traemos a esta Sesión Científica cuatro primeras figuras que nos van a poner al día de diferentes aspectos de cómo Rejuvenecer y controlar la vejez.

Termino esta breve introducción con mi agradecimiento a los cuatro ponentes que escucharemos a continuación, mi agradecimiento también a los alumnos de nuestras facultades, los profesionales de mañana, hoy muy jóvenes, que han tenido la generosidad de asistir y engalanar con su presencia esta sala. Muchas gracias a todos.

La ciencia reta al envejecimiento: hacia un futuro sin enfermedad

María Blasco

Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas

Corresponding Author: mblasco@cnio.es

An Real Acad Farm Vol. 83, Nº 1 (2017), pp. 103-105

INTRODUCCIÓN

La pregunta que me he hecho a lo largo mi vida científica, es una pregunta bastante simple. De hecho, estoy segura que ustedes también se han hecho esta misma pregunta muchas veces, incluso cuando eran niños o niñas...¿Por qué somos mortales?¿Por qué es nuestra vida finita ¿Por qué la duración de la vida es una y no otra? En definitiva...¿Por qué crecemos, envejecemos y morimos?¿Qué leyes de la biología determinan eso? ¿Por qué enfermamos?...y si lo averiguamos...¿Podríamos erradicar las enfermedades? Y si erradicamos las enfermedades... ¿Sería posible vivir más?

Estas son las preguntas a la que he dedicado mi vida científica.

Los griegos ya se hacían estas mismas preguntas, y tenían un mito muy bien pensado para explicar la mortalidad de los humanos, permítanme que lo relate:

La **Parcas** eran tres hermanas hilanderas llamadas **Cloto**, **Láquesis** y **Átropos**. Eran las que regulaban la duración de la vida de los mortales, desde el nacimiento hasta la muerte. Esto lo hacían con ayuda de un hilo que la primera hilaba con una rueca, la segunda enrollaba y medía, y la tercera cortaba sin previo aviso terminando con la existencia del correspondiente individuo. **Así, la longitud de este hilo determinaba la vida de cada mortal**. De esta manera, estas criaturas mitológicas y sobrehumanas dictaban la longevidad humana. Según el mito, poco se podía hacer al respecto, era el destino, y había que asumirlo. Y creo que, 2000 años después, aun queda algo de ese mito, y aun asumimos que hay un destino sobrehumano e ineludible (llámenlo leyes naturales si quieren): aún asumimos que un día nos tocará irnos de este mundo, seguramente sin previo aviso, y que poco podremos hacer para evitarlo.

Sin embargo, frente a esa resignación, fueron también los griegos, quienes desafiaron a los dioses, a las leyes naturales, y con ello escribieron algunas de las primeras líneas de la historia de la ciencia y de la medicina. La primera autopsia documentada se realizó en el año 300 ac en Alejandría y así se averiguó que la muerte tiene una causa fisiológica, no es un designio divino ni una ley natural inalterable. Posteriormente, el medico griego Galeno correlacionó lo encontrado en la autopsia con los síntomas que mostraban los pacientes antes de morir. Morimos porque hay enfermedades. Y así, gracias las autopsias, los griegos describieron muchas enfermedades, como por ejemplo, el cáncer (que se llamó *karkinoma* en Griego, por la similitud de su crecimiento con las patas de

un cangrejo). Pero además de aprender que las Parcas no eran las que decidían la muerte, se abría la posibilidad de intervenir, de cambiar las cosas: si la muerte no es un designio divino, si hay una causa fisiológica identificada y eso causa las enfermedades, entonces podremos intentar evitarla, o al menos podremos intentar curar las enfermedades antes de que nos maten.

Y en ello estamos. Más de 2000 años después de aquella primera autopsia con la que los humanos retamos a dioses, y a las leyes naturales, hemos avanzado muchísimo, y conocemos mucho de las enfermedades. Un ejemplo de éxito son las enfermedades infecciosas, algunas de las cuales hemos conseguido hasta erradicar (viruela) y otras podemos controlar. Esto ha sido posible gracias a que, primero hemos descubierto los gérmenes que las causan, y después hemos conseguido neutralizar o matar esos gérmenes. Un éxito reciente ha sido el SIDA, una enfermedad que mataba a las personas infectadas en menos de dos años y que hoy en día es crónica. De hecho, tenemos una cierta tranquilidad de que, aunque aparezcan gérmenes nuevos en el futuro, sabemos que el camino es primero identificarlos y después matarlos. El controlar las enfermedades infecciosas ha hecho que la esperanza de vida al nacimiento se haya duplicado desde principios del siglo XX.

Sin embargo, 2000 años después, aun no hemos sido capaces de acabar con las grandes enfermedades de nuestra sociedad, aquellas que no son enfermedades infecciosas, y que hoy en día son la primera causa de muerte en los países desarrollados. El cáncer, el infarto, el Alzheimer, nos siguen matando prematuramente. Sabemos que el camino para acabar con ellas es identificar su germen, su causa, y así poder prevenirlas, curarlas cuando aparezcan, e incluso poder erradicarlas. Pero ¿Cuál es su germen? Sabemos que el germen es el proceso mismo del envejecimiento del organismo. En definitiva, es el hecho de nacemos, crecemos, envejecemos y morimos. ¿Podemos retar esa ley natural? ¿Será por eso por lo que aún no hemos conseguido acabar con ellas? Conseguirlo implicaría controlar nuestro propio destino biológico.

El físico y premio Nobel Richard Feynman dijo: *“No se ha encontrado aún nada en la biología que indique la inevitabilidad de la muerte. Esto sugiere que no es algo inevitable, y que es sólo cuestión de tiempo hasta que los biólogos descubran que es lo que la causa, y entonces, esa enfermedad universal y terrible, la temporalidad del cuerpo humano, será curada”*.

La temporalidad del cuerpo humano... entenderla es a

lo que he dedicado mi vida científica. Me he dedicado a tratar de entender las causas moleculares de por qué envejecemos, ya que es el envejecimiento en sí mismo, la causa de la mayor parte de las enfermedades que afectan a nuestra sociedad. Algunos científicos, entre los cuales me incluyo, pensamos que cáncer y Alzheimer tienen el mismo origen molecular, que es este proceso de envejecimiento. De acuerdo con esta idea, hoy sabemos que las enfermedades no aparecen de un día para otro, cual Parca cortando el hilo de la vida caprichosamente, sino que se inician y desarrollan en nuestro organismo durante décadas antes de que se diagnostiquen como tales. También pensamos que si no envejeciéramos, si fuéramos capaces de ser eternamente jóvenes, sería muy raro que sufriéramos estas enfermedades. Y claro, si fuésemos siempre jóvenes y no enfermáramos, seguramente también viviríamos mucho más...se alargaría indefinidamente ese hilo de las Parcas, que sólo se podría cortar de manera accidental, quizás con un nuevo germen infeccioso contra el cual aún no tenemos terapias, o de muerte accidental...

En mi grupo hemos estado estudiando ese hilo de la vida de las Parcas, que no es otra cosa que una hebra molecular, una hebra hecha del ácido desoxirribonucleico o ADN. El ADN es la hebra de la vida. Si extendiéramos el ADN de una célula - y piensen que estamos formados por unos 37 trillones de células- éste mediría unos 2 metros. El ADN tiene codificada toda la información necesaria para la vida. Al final de esta hebra, justo en los extremos, hay una estructura especial llamada telómero, es especial por que al igual que Átropos se va acortando conforme vivimos. Ahora sabemos que la velocidad a la cual se acorta esta hebra, el telómero, está determinada por los genes, pero también por como vivimos, por lo que comemos, por si fumamos o no fumamos, por si hacemos o no ejercicio, y también por la buena o mala suerte que hemos tenido, incluso el estrés puede hacer que los telómeros se acorten más rápido de lo normal.

En mi grupo hemos demostrado que la erosión de los telómeros, es una de las causas principales del proceso de envejecimiento celular y de enfermedad, incluido el cáncer. Esto lo hemos demostrado aislando en mamíferos una máquina molecular (un enzima) que es capaz de rejuvenecer los telómeros, la llamada telomerasa (que vendría a ser como las Parcas hiladoras Cloto y Láquesis), y que fue originalmente descubierta por la que fue mi mentora, Carol W. Greider, y por su mentora, Elizabeth Blackburn, y que por ello recibieron el Premio Nobel de Medicina o Fisiología en 2009 junto con Jack Szostak. El aislamiento de los genes de la telomerasa, en el que tuve la suerte de participar, nos ha permitido generar modelos animales donde hemos disminuido o aumentado la telomerasa. A menos telomerasa, hemos visto que los telómeros son más cortos y que se producen las enfermedades de manera prematura, y a más telomerasa los telómeros son más largos y hemos conseguido que se retrase la aparición de muchas enfermedades a la vez, en ratones. Y con ello, hemos conseguido que los ratones vivan sanos hasta un 40 % más. Que sería como si

consiguiéramos que la mayor parte de los humanos alcanzáramos a los 115-120 años en buen estado de salud.

Aquí me gustaría hacer un inciso sobre la necesidad de innovar, de trasladar los descubrimientos básicos a aplicaciones. Los científicos no somos unos seres despistados que estamos al margen del mundo y de las necesidades humanas. No vivimos de espaldas a la innovación, de hecho, estamos ávidos de poder tener el apoyo necesario para poder trasladar nuestros descubrimientos a aplicaciones, ya que para un científico, no hay nada más gratificante que el ver que sus descubrimientos pueden tener un impacto en la sociedad.

En mi grupo, hemos trasladado algunos de nuestros descubrimientos sobre los telómeros y la telomerasa al desarrollo de biomarcadores de este proceso de envejecimiento, así los llamados test teloméricos nos permiten detectar a los individuos que tienen un proceso de envejecimiento acelerado, con el fin de detectar a tiempo o quizás también en el futuro de prevenir enfermedades. Además, estamos probando el potencial de usar la telomerasa como tratamiento para la prevención y tratamiento de distintas enfermedades degenerativas asociadas al envejecimiento en modelos de ratón, entre ellas la enfermedad cardiovascular, distintos tipos de fibrosis, y enfermedades neurodegenerativas. Quien sabe, quizás en un futuro no tan lejano podríamos evitar muchas enfermedades, y conseguir vivir más y mejor.

En el caso del cáncer, aunque también es una enfermedad asociada al envejecimiento, sin embargo, se da un fenómeno único, que no ocurre en otras enfermedades del envejecimiento. El cáncer es especial. Las células del cáncer despiertan a la telomerasa de manera aberrante y así consiguen la inmortalidad. Por ello en el caso del cáncer, lo que estamos haciendo es intentar destruir sus telómeros, tal tijera de Átropos, para hacerlo envejecer y morir.

¿Cuál es entonces el objetivo final?

No queremos ser inmortales como el cáncer, que perpetua la existencia de células dañadas que nos acaban matando... lo que nos gustaría es ser eternamente jóvenes y no enfermar...

Y para esa diferencia entre inmortalidad y ser eternamente jóvenes también hay un ilustrativo mito griego.

Titón era un mortal hijo del rey de [Troya](#), era muy bello, y la diosa [Aurora](#) se enamoró de él. Para poder estar siempre con él, Aurora pidió a [Zeus](#) que concediera la [inmortalidad](#) a Titón, y Zeus se lo concedió. Pero a la diosa se le olvidó pedir también la juventud eterna, de modo que Titón fue haciéndose cada vez más viejo y arrugado hasta que se convirtió en un grillo.

Hoy en día, quizás los humanos somos un poco como Titón, conseguimos vivir cada vez más años pero seguimos envejeciendo, de tal modo que cada vez estamos más viejos y tenemos más enfermedades. Lo que tendríamos que conseguir es alargar la juventud y de este modo viviríamos sanos durante más tiempo y habría menos enfermedades: eso es lo que hemos visto que pasa

en los ratones a los que alargamos los telómeros con telomerasa, no es que vivan más tiempo estando viejos, sino que lo que hacemos es aumentar la juventud y evitar las enfermedades, y por ello viven más.

.

Edad cronológica y edad biológica

Mónica de la Fuente

Departamento de Fisiología. Facultad de Biología. Universidad Complutense de Madrid. Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre de Madrid.

ABSTRACT: Chronological age is not always coincident with biological age, a concept established to assess, after reaching adulthood, the speed at which the aging process is carried out, the longest period in human life and which determines The longevity of each individual. The need to have markers that determine that biological age has been a challenge for years. Our group has verified how certain functions of immune cells are not only important health indicators, also biological age and predictors of longevity. The cause of the changes that the immune system undergoes in aging, which constitutes the immunosenescence, is the same that affects to the other systems of the organism, an oxidative stress, that takes place together with an inflammatory stress. The theory of oxidation-inflammation of aging, proposed by us, in addition to suggesting that fact contemplates the implication of the immune system in the speed at which each individual ages. It has been proven that subjects who achieve great longevity, such as centenarians, have leukocytes with less oxidation and inflammation and work better than those of seventy. On the other hand, those adult subjects who have more oxidized leukocytes, present premature immunosenescence and show a shorter life expectancy. A series of lifestyle strategies (nutrition, exercise, social relationships, etc.) are proposed to improve redox status and immune function and consequently achieve greater longevity.

RESUMEN: La edad cronológica no es siempre coincidente con la edad biológica, concepto establecido para valorar, tras alcanzar la edad adulta, la velocidad a la que se lleva a cabo el proceso de envejecimiento, el periodo más largo en la vida del ser humano y que determina la longevidad de cada individuo. La necesidad de tener marcadores que determinen esa edad biológica ha sido un reto desde hace años. Nuestro grupo ha comprobado como determinadas funciones de las células inmunitarias no sólo son importantes indicadores de salud, también de edad biológica y predictores de longevidad. La causa de los cambios que sufre el sistema inmunitario al envejecer, lo que constituye la inmunosenescencia, es la misma que afecta a los otros sistemas del organismo, un estrés oxidativo, que tiene lugar conjuntamente con un estrés inflamatorio. La teoría de la oxidación-inflamación del envejecimiento, propuesta por nosotros, además de sugerir ese hecho contempla la implicación del sistema inmunitario en la velocidad a la que cada individuo envejece. Se ha comprobado que los sujetos que alcanzan gran longevidad, como los centenarios, tienen unos leucocitos con menor oxidación e inflamación y funcionan mejor que los de personas de setenta. Por su parte aquellos sujetos adultos que tienen leucocitos más oxidados, presentan prematura inmunosenescencia y muestran una esperanza de vida menor. Se proponen una serie de estrategias de estilo de vida (nutrición, ejercicio, relaciones sociales,...) para mejorar el estado redox y la función inmunitaria y consecuentemente alcanzar una mayor longevidad saludable.

Corresponding Author: mondelaf@bio.ucm.es

An Real Acad Farm Vol. 83, Nº 1 (2017), pp. 106-115

LOS PROBLEMAS DE LA ELEVADA EDAD CRONOLÓGICA

La edad cronológica la podemos definir como el tiempo transcurrido desde el nacimiento de un individuo. De todas las etapas que constituyen esa edad nos vamos a centrar en la del envejecimiento, esto es el periodo comprendido desde la edad adulta hasta el final de la vida. En el ser humano esta fase tiene gran relevancia por lo que representa demográficamente y biológicamente, y además supone el periodo más largo de nuestra existencia.

Demográficamente el número de personas que superan los 65 años está aumentando considerablemente en muchos países y de forma especial en España. Así, en 2011 suponía el 17,3 % de la población y para el 2021 será el 20,6 %. Si el aumento del número de personas mayores de 65 ha sido espectacular en los últimos años, más lo es y será el de los mayores de 80 años. Esto, junto con la

disminución del número de nacimientos hace que la pirámide de la población de España sea de forma de bulbo, esto es, la denominada “regresiva”.

Biológicamente podemos definir el envejecimiento como “la disminución progresiva y generalizada de la función del organismo, con un estado de menor adaptación al cambio y con una disminuida capacidad para restaurar la homeostasis”. Si el mantenimiento de la homeostasis es la base de la salud, se entiende que al envejecer se tenga peor salud y aumente del riesgo de morbilidad y mortalidad, lo cual no quiere decir que el envejecimiento sea una enfermedad. No lo es. Es un proceso biológico natural, pero por sus características las personas van percibiendo una peor salud al avanzar la edad.

Dado que el proceso de envejecimiento empieza al terminar el desarrollo y alcanzar la edad reproductora, esto es, en la edad adulta, y finaliza con la muerte del

individuo, en el ser humano supone el periodo más largo de nuestra vida. Así, desde los 20 años estamos envejeciendo, siendo la duración de este proceso la que determina la longevidad de cada persona.

En el concepto de longevidad debemos distinguir la “longevidad máxima” o “esperanza de vida máxima” de la “longevidad media” o “esperanza de vida media”. La longevidad máxima se define como “el total de tiempo de la vida del individuo que más ha vivido de una especie”, y no se ha modificado desde que cada especie se instauró en nuestro planeta. Podemos encontrar insectos con una longevidad máxima de un día, roedores con cuatro años, algún molusco con más de quinientos, como la *Arctica islandica*, y el ser humano con sus algo más de ciento veinte años. Es posible que Jeanne Louise Calment, nacida en Arles, Francia en 1875 y fallecida en 1997, sea con sus 122 años la persona claramente documentada como más longeva. Respecto a la longevidad media, la misma se define como “la media de tiempo de vida para una determinada población que ha nacido en la misma fecha”. Esta ha aumentado en el caso del ser humano, de forma evidente en los países desarrollados y especialmente en las últimas décadas. Así, en los datos recogidos en 1990 aparece para España una esperanza de vida media de 78,6 años en mujeres y de 72,5 en los hombres. En 2009 esos valores eran ya de 84,9 y 78,9, respectivamente. Un país en el que los individuos alcanzan una gran longevidad es Japón. En el mismo se ha pasado de 80,2 años y 74,5, para mujeres y hombres en 1990 a 85,6 y 78,8 en 2009. Actualmente la esperanza de vida media en Japón y España es la misma, 84 años.

¿TODOS LOS INDIVIDUOS ENVEJECEN A LA MISMA VELOCIDAD?

Es evidente que la respuesta a esta pregunta es un rotundo “No”. Todos conocemos personas que parecen

mayores de lo que le corresponde por su edad cronológica, mientras que otras alcanzan una edad avanzada con salud y con una apariencia juvenil. Dado que el envejecimiento, de momento, es inevitable, lo que todos queremos es vivir esa etapa de la vida en las mejores condiciones.

El proceso de envejecimiento es muy heterogéneo. Dentro del organismo no envejece a la misma velocidad unos sistemas que otros, pero tampoco lo hacen los individuos de un colectivo que han nacido en la misma fecha. Esto generó ya a mediados del siglo pasado el concepto de “Edad Biológica”, más representativa que la “Edad cronológica” para saber cómo está envejeciendo cada persona.

Esa velocidad a la que se envejece va a depender de cómo se sea capaz de mantener el estado de salud, lo cual viene condicionado por el “genoma” y lo que se ha denominado “ambioma” de cada sujeto. Los genes son los que heredamos, pero se ha comprobado que ellos influyen tan solo con un 25 % en ese mantenimiento de la salud. Lo que más participa en la misma son los factores ambientales y de estilo de vida. Así, tanto genes como ambiente están repercutiendo en cada individuo desde el momento de su concepción, a lo largo de la vida fetal, en la vida postnatal, durante todo el desarrollo, la edad adulta y el envejecimiento. Lo que hay que tener presente es que si bien en la vida fetal y en el primer periodo postnatal tenemos poca capacidad para controlar nuestro ambiente y no podemos hablar de estilo de vida, posteriormente, y de forma especial en el envejecimiento, sí es cada uno responsable de su estilo de vida, y por tanto, de la salud y la longevidad que se pueda alcanzar. Lo que se coma y se beba, la actividad física que se haga, cómo afrontemos las situaciones cotidianas del estrés de la vida, las relaciones que establezcamos, son algunas de las cosas que van a determinar esa longevidad saludable (Figura 1).



MARCADORES DE EDAD BIOLÓGICA

La edad cronológica es fácil de medir, pero, como ya

se ha indicado falla a la hora de ser un buen indicador de la velocidad de envejecimiento de cada individuo. Para saber cómo estamos envejeciendo y cual será por tanto nuestra

esperanza de vida, tenemos a la edad biológica, pero ésta tiene la dificultad de su valoración. Por ello, desde que se instauró ese concepto, los científicos han intentado encontrar marcadores que permitan determinarla. La mayoría de los estudios se han centrado en detectar algunos parámetros fisiológicos (capacidad respiratoria vital, presión arterial, entre otras), bioquímicos (niveles sanguíneos de colesterol, triglicéridos, glucosa, ...) o psicológicos (rapidez de respuesta a estímulos, ..) que pudiesen ser indicadores de esa edad biológica. Más recientemente, la longitud de los telómeros o marcadores epigenéticos como la metilación del ADN han sido también propuestos. No obstante, ninguno de ellos ha sido adecuadamente validado como indicadores de edad biológica.

Nuestro grupo de investigación ha conseguido demostrar que varios parámetros de función de las células inmunitarias pueden ser utilizados para la determinación de la edad biológica de un individuo.

EL SISTEMA INMUNITARIO, UN MARCADOR DE EDAD BIOLÓGICA

El sistema inmunitario es el encargado de defendernos frente a infecciones y cánceres a las que estamos constantemente expuestos. Este sistema está constituido por una gran variedad de células y moléculas capaces de reconocer y eliminar un número ilimitado de diferentes agentes extraños al organismo, entre los que se incluyen no sólo los microorganismos invasores sino también las células de nuestro cuerpo que continuamente se nos malignizan. El conjunto de mecanismos que se ponen en marcha para llevar a cabo esa función se conoce como respuesta inmunitaria. En esta respuesta se da una primera fase de reconocimiento de lo extraño, el antígeno, para posteriormente llevarse a cabo una activación de las células y moléculas que van a permitir la eliminación de ese antígeno. En ese proceso de destrucción se establece una respuesta inflamatoria, la cual es necesaria para la eliminación de los patógenos, pero que debe finalizar para no promover una inflamación crónica que suponga la aparición de una patología. Por ello, la activación del sistema inmunitario debe estar perfectamente regulada, pues si no lo está podría darse, y de hecho sucede, la aparición de enfermedad y muerte del individuo. Además de defendernos de lo extraño, el sistema inmunitario se dedica a eliminar los tejidos dañados, proceso que también implica una inflamación.

El sistema neuroinmunoendocrino

El sistema inmunitario es fundamental en el mantenimiento de la homeostasis corporal, siendo un claro sistema regulador, en igualdad de condiciones con los sistemas reguladores clásicos como el sistema nervioso y el endocrino, con los que se comunica estrechamente constituyendo el denominado sistema neuroinmunoendocrino.

El sistema inmunitario representa un sistema de recepción de información de estímulos denominados “no cognocitivos” que aparecen en el organismo (infecciones,

células malignizadas o extrañas) y respuesta a los mismos, comunicando dicha información (a través de las citoquinas que produce) al sistema neuroendocrino. Por su parte el sistema nervioso y neuroendocrino es receptor de estímulos “cognitivos” (luz, sonido, situación de estrés, etc.) a los que responde, y sus mediadores (neurotransmisores y hormonas) llegan al sistema inmunitario informándole de la situación. La demostración científica de esa comunicación ha permitido comprender toda una serie de hechos observados en la vida cotidiana. Es evidente que las situaciones de depresión, estrés emocional o ansiedad, provocadas por ejemplo por la pérdida de trabajo o de un ser querido, entre otras, se acompañan de una mayor propensión a padecer desde procesos infecciosos hasta cánceres o enfermedades autoinmunes, lo que supone que el sistema inmunitario se encuentra deteriorado y consecuentemente hay una peor salud y menor longevidad. Por el contrario, situaciones agradables o una “visión optimista” de la vida nos ayuda a superar enfermedades que tienen una base inmunitaria y, en general, a tener mejor salud. Por otra parte, se ha confirmado que alteraciones en el sistema inmunitario, como puede suceder en un proceso infeccioso, modifican la funcionalidad del sistema nervioso pudiendo llegarse, en algunas situaciones extremas, a estados psicóticos. Hoy se sabe que las células de los tres sistemas comparten receptores para los mediadores típicos de los otros y además pueden sintetizar dichos mediadores. Se ha comprobado que los leucocitos producen neurotransmisores y hormonas y que las células nerviosas pueden producir citoquinas típicas de los leucocitos. Así, cualquier incidencia que podamos ejercer en el sistema inmunitario repercutirá en los sistemas nervioso y endocrino, y a la inversa. Actualmente la “psiconeuroinmunoendocrinología” o más abreviadamente “psiconeuroinmunología” es un área científica en expansión.

Es precisamente en la capacidad de respuesta a las múltiples situaciones de estrés emocional con las que cada individuo se enfrenta en su vida cotidiana donde mejor se entiende la comunicación entre los sistemas homeostáticos. Una inadecuada respuesta al estrés, uno de los hechos que mejor definen el envejecimiento de los individuos, va a repercutir en una mala función inmunitaria y, en general, en la de los otros sistemas fisiológicos, lo que supone una peor salud.

La inmunosenescencia

El deterioro que manifiesta el sistema inmunitario al avanzar la edad es evidente y de hecho, es conocido que al envejecer tienen lugar una mayor incidencia de fenómenos autoinmunes, infecciones y cánceres, patologías que indican la presencia de un sistema inmunitario poco eficiente. Además, el mayor porcentaje de muertes en la vejez tiene lugar por esos procesos patológicos, especialmente como consecuencia de los infecciosos.

Aunque con el envejecimiento las células inmunitarias cambian cuantitativamente y en su capacidad funcional, no todas las modificaciones van en el mismo sentido de

mostrar una disminución en sus características. Hay funciones que al envejecer se encuentran más activadas y otras no varían sustancialmente. Por ello, se ha sugerido que lo que se produce al envejecer es una “reestructuración” del sistema inmunitario que afecta a cada uno de sus componentes y a las interacciones entre los mismos, lo que se denomina “inmunosenescencia”. Actualmente todavía existen bastantes controversias sobre las modificaciones que experimenta la respuesta inmunitaria con el envejecimiento. Entre algunas de las causas que explican esos datos dispares se encuentra, por ejemplo, la elección de las edades en la que se efectúan los estudios, los cuales son, mayoritariamente, de tipo transversal. La comparación de los resultados entre individuos que, muchas veces con criterios bastante arbitrarios, se denominan jóvenes y viejos, crea más confusión que clarifica el tema. En este contexto, otro hecho a tener en cuenta es que los estudios llevados a cabo en individuos de edad muy avanzada no son de utilidad para entender el proceso de inmunosenescencia, pues los longevos o centenarios no son representativos de la población anciana, como posteriormente se comentará con más detalle. Otros hechos a considerar son las diferencias que hay entre especies, entre sexos, así como la diversidad interindividual que se manifiesta en cada especie, de forma evidente en el ser humano, pero también en los animales de experimentación. Factores nutricionales, psicológicos o ambientales influyen decisivamente en la funcionalidad inmunitaria. También hay que tener en cuenta los cambios circadianos y circunales. Así, no está igual la respuesta inmunitaria en un individuo por la mañana que por la tarde (de hecho se está más envejecido inmunológicamente por la tarde), o en primavera que en invierno (siendo esta estación la de mayor inmunosenescencia). Las localizaciones de las que se obtengan las células inmunitarias, la dificultad de tener una estandarización en las técnicas que analizan la función leucocitaria, son otros hechos a tener en cuenta para entender los resultados tan diferentes que se pueden obtener. Todo ello hace necesario establecer estudios longitudinales muy bien estandarizados que realmente aporten una idea de lo que sucede con el sistema inmunitario al envejecer.

Ya se ha comentado la utilidad de establecer parámetros que permitan determinar la edad biológica y que se relacionen claramente con la longevidad de cada individuo. Nuestro grupo ha conseguido estandarizar, tanto en ratones como en humanos, una serie de parámetros funcionales de las células inmunitarias que se modifican con la edad. De todas las funciones posibles que llevan a cabo las células inmunitarias nuestro grupo se ha centrado en una serie de ellas. En los linfocitos su propiedad de adherirse a los endotelios vasculares, la de moverse hacia el sitio de reconocimiento antigénico (quimiotaxis), la de proliferar en respuesta a mitógenos y la de liberar citoquinas como la IL-2. En los fagocitos se han estandarizado las funciones del proceso fagocítico: la adherencia, quimiotaxis, ingestión o fagocitosis de partículas extrañas y la destrucción de los agentes

patógenos mediante la producción intracelular de radicales libres como el anión superóxido, los cuales se quedan en el fagosoma de estas células. Por su parte, en las *natural killer* (NK) se ha analizado su capacidad de lisar células tumorales propias de la especie animal estudiada. Estos parámetros han sido valorados en las diferentes décadas de la vida del ser humano, desde la edad adulta de los veinte años a los ochenta, en leucocitos de sangre periférica, y a lo largo de los meses de vida de ratones de varias cepas, en sus leucocitos peritoneales. Este tipo de estudios longitudinales que, aunque muy costosos, se pueden hacer en ratones (con poco más de dos años de vida) son prácticamente imposibles de llevar a cabo en humanos. Nuestros resultados han demostrado que en las dos especies tiene lugar una evolución semejante de dichos parámetros a lo largo de la vida de los individuos pertenecientes a las mismas. Al envejecer, disminuyen las capacidades funcionales que son más beneficiosas, como pueden ser la respuesta linfoproliferativa a los antígenos o la actividad NK que nos defiende frente a las células tumorales. También lo hace la IL-2, que está regulando las dos funciones indicadas, así como la capacidad de quimiotaxis, la de ingerir lo extraño por parte de los fagocitos e incluso la de tener niveles adecuados de anión superóxido en los fagosomas. Sin embargo, se activan aquellas funciones que podrían resultar perjudiciales si lo hacen en exceso, como es el caso, por ejemplo, de la expresión de moléculas de adhesión que favorecen la adherencia de los leucocitos a los tejidos, impidiéndoles cumplir llegar al sitio donde tienen que llevar a cabo su misión.

Es evidente que para acreditar a esos parámetros como marcadores de “edad biológica” y consecuentemente de longevidad es necesario que el valor que muestren en los individuos se relacione con lo que viven los mismos. Hay dos aproximaciones que lo permiten. Una es comprobar que aquellos individuos que en la edad adulta tengan valores en esos parámetros similares a los que presentan los de mayor edad cronológica, realmente mueren antes. Esto no puede llevarse a cabo en humanos por su elevada longevidad, pero se ha hecho en modelos animales como se comentará más adelante. La otra aproximación es corroborar que aquellos sujetos que alcanzan una gran longevidad muestran unos valores de esos parámetros similares a los de los adultos sanos. Aquí sí podemos tener el modelo humano de los centenarios, además de los animales de experimentación que llegan a longevos.

Modelos de envejecimiento prematuro en ratones

Uno de los modelos de envejecimiento prematuro que hemos descrito en ratones, se basa en la diferente realización de una prueba conductual en un laberinto en T simple por ratones del mismo sexo y edad cronológica. Los animales jóvenes-adultos que realizan peor la prueba tienen una mayor edad biológica, esto es un envejecimiento prematuro. Esto se detectó en primer lugar por tener dichos animales un sistema inmunitario más envejecido, con valores propios de los de animales con mayor edad cronológica. También mostraron estos ratones

prematuramente envejecidos, a los que hemos denominado PAM (*prematurely ageing mice*), en relación con los no prematuramente envejecidos (denominados NPAM: *nonprematurely ageing mice*) de la misma edad, unos niveles de ansiedad mayores y una neuroquímica cerebral correspondiente a animales más viejos. Sin embargo, lo que definitivamente aseguró tales parámetros como marcadores de edad biológica es que dichos animales prematuramente envejecidos tenían una significativamente menor longevidad que sus compañeros de igual edad cronológica NPAM. Dada la idéntica evolución de los parámetros estandarizados en ratones y en el ser humano, los resultados en aquellos nos permiten extrapolar la idea de que cuando una persona presenta valores típicos de una edad mayor en esos parámetros, tiene una esperanza de vida más limitada.

El paradigma de los centenarios

Un hecho que demuestra el importante papel del sistema inmunitario en la salud y la longevidad de los individuos es la comprobación de que aquellos que llegan a edades muy avanzadas en buenas condiciones son los que mantienen una funcionalidad de sus células inmunitarias semejante a la de los adultos. Los centenarios, que son el paradigma del envejecimiento satisfactorio, parecen presentar una mejor adaptación a las agresiones internas y externas, en particular con respecto a las que inciden en el sistema inmunitario, el cual muestra una capacidad funcional semejante a la de las personas adultas (de 30 años) y en cualquier caso mucho mejor que la que tienen los de setenta años. Un hecho similar al indicado para centenarios lo hemos observado en células inmunitarias peritoneales de ratones longevos. Todos estos resultados confirman que el sistema inmunitario es un buen indicador del estado de salud y predictor de longevidad.

CAUSAS DE LA INMUNOSENESCENCIA

Los mecanismos que subyacen al envejecimiento deben ser de aplicación universal, por lo que la causa de la inmunosenescencia será la misma que la que hace envejecer a las demás células del organismo: el estrés oxidativo que se genera por el imprescindible uso del oxígeno para la función celular. En esta utilización del oxígeno se generan radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS: *reactive oxygen species*). Sabido es el daño que los oxidantes producen en las moléculas y consecuentemente en la función de las células y como éstas generan defensas antioxidantes para evitarlo. Pero cada vez se tiene más claro que los oxidantes, que evidentemente son dañinos, también son necesarios para muchas funciones celulares. Este hecho es aún más evidente en las células inmunitarias. Los leucocitos, como ya se ha comentado, necesitan producir radicales libres y compuestos oxidantes e inflamatorios para llevar a cabo sus funciones y conseguir la destrucción de los antígenos. Hay que tener presente que la oxidación y la inflamación son procesos íntimamente relacionados. También, hay que tener en consideración que las células inmunitarias son

particularmente sensibles a la oxidación dado el alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados que tienen en sus membranas, el papel crítico de la señalización intracelular relacionada con esas membranas y la expresión génica que requieren en su labor defensiva. Por todo ello, si en cualquier célula del organismo es importante preservar el equilibrio entre producción de oxidantes y niveles de defensas antioxidantes, más lo es en las células de nuestro sistema defensivo. Tanto el estrés oxidativo (mayor cantidad de oxidantes que de antioxidantes) como el estrés reductor (exceso de antioxidantes que anulan las acciones de los oxidantes) son desequilibrios que pueden determinar la inadecuada capacidad funcional del sistema inmunitario, y con ello, condicionar la salud del organismo.

Para poder conocer cómo se encuentra el estado redox de los leucocitos a lo largo de la edad, nuestro grupo ha estudiado en dichas células los niveles de toda una serie de oxidantes y de defensas antioxidantes. De estas defensas antioxidantes el glutatión es, posiblemente, la más relevante. En su forma reducida (GSH) se utiliza para eliminar peróxidos, lo que hace mediante la activación de otra defensa antioxidante enzimática, la glutatión peroxidasa (GPx). El glutatión oxidado que se genera (GSSG) es un importante oxidante, teniendo que recuperarse a la forma reducida de GSH mediante la glutatión reductasa (GR), otra importante enzima antioxidante. De hecho, el índice GSSG/GSH se considera un importante marcador de estrés oxidativo celular. Como otras defensas enzimáticas antioxidantes se encuentran la superóxido dismutasa (SOD), enzima que convierte al anión superóxido en peróxido de hidrógeno y la catalasa (CAT) que, entre otras actividades, elimina el peróxido de hidrógeno pasándolo a agua (Figura 2). Los resultados obtenidos por nuestro grupo muestran como los parámetros de oxidación analizados aumentan en los leucocitos con la edad, mientras disminuyen las defensas antioxidantes y, como consecuencia de esta situación de estrés oxidativo, se produce un aumento del daño a biomoléculas en las células inmunitarias, tanto a nivel de lípidos como del ADN nuclear. A la vista de nuestras investigaciones y de la de algunos otros grupos, se puede afirmar que los cambios que se producen en la funcionalidad de las células inmunitarias con el envejecimiento se deben al “estrés oxidativo crónico” que experimentan las mismas con el paso del tiempo. Más aún, en estudios longitudinales llevados a cabo en ratones, hemos observado que aquellos animales que mantienen desde la edad adulta unos mayores niveles de defensas antioxidantes y menores de oxidantes y daño oxidativo en sus células inmunitarias, en relación al resto de la población de igual edad cronológica analizada, son los que llegan a gran longevidad. De hecho, los centenarios tienen un estado redox en sus células inmunitarias semejante al de los adultos sanos. Por el contrario los que muestran menores antioxidantes y mayores niveles de oxidación y daño mueren prematuramente.



Fig.2

TEORÍA DE LA OXIDACIÓN-INFLAMACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO

Desde hace unas décadas la idea de la presencia de un estado de inflamación crónica al envejecer está siendo ampliamente aceptada, habiéndose generado el término de “*inflamm-aging*” para describir lo que sucede en el envejecimiento. Como ya se ha comentado, inflamación y oxidación son dos procesos íntimamente relacionados. En base a todo lo indicado anteriormente, propusimos hace unos años una nueva teoría del envejecimiento, la de la “oxidación-inflamación”, acuñando el término “*oxi-inflamm-aging*” para describir lo que sucede al envejecer. La teoría sugiere que el envejecimiento es un estrés oxidativo crónico, asociado a un estrés inflamatorio, los cuales afectarían a todas las células del organismo, pero tendría especial relevancia en las de los sistemas homeostáticos, el nervioso, el endocrino y el inmunitario. De esta forma, la falta de función que acabaría sucediendo en las células de estos sistemas y el deterioro en la comunicación entre los mismos, impediría un mantenimiento adecuado de la homeostasis y el consecuente aumento de morbilidad y mortalidad típico de la vejez. En este contexto, el sistema inmunitario por su característico funcionamiento en el que requiere generar continuamente una elevada cantidad de compuestos oxidantes e inflamatorios, podría activar factores, como por ejemplo el ubicuo factor de transcripción NF- κ B, que, al alcanzar un cierto grado de activación, estimularía la expresión de genes de compuestos oxidantes e inflamatorios. De hecho, este factor manifiesta una gran activación en leucocitos de individuos viejos, no apareciendo la misma en los de adultos sanos y de longevos. Así, si esa producción de compuestos oxidantes/inflamatorios no se regula adecuadamente, se podría generar un “círculo vicioso” con mayor cantidad de compuestos oxidantes e inflamatorios por parte del sistema inmunitario que podría acelerar el estrés oxidativo e

inflamatorio del organismo, y por tanto, la velocidad de envejecimiento. Por tanto, nuestra propuesta es que el sistema inmunitario podría estar implicado en cómo cada individuo lleva a cabo su envejecimiento, en la edad biológica del mismo (Figura 3).

Una serie de hechos demuestran esta hipótesis. Así, se ha indicado que los individuos que llegan a centenarios o los animales que alcanzan una elevada longevidad, son aquellos que mantienen mejor el estado redox de sus células inmunitarias y consecuentemente la función de las mismas. En el modelo de envejecimiento prematuro anteriormente comentado, los PAM, con una menor longevidad que los NPAM, mostraron un mayor estrés oxidativo en sus leucocitos, los cuales tienen también, como ya se ha indicado, una peor capacidad funcional que la de los NPAM de la misma edad. Además, ese mayor estrés oxidativo lo hemos detectado también en el cerebro y en otras localizaciones del organismo como hígado, corazón, riñón, etc de esos PAM en comparación con lo que sucede en los NPAM.

Esta relación de una mayor oxidación en las células inmunitarias con una peor capacidad funcional de las mismas se ha observado en varias situaciones que se han propuesto como modelos de envejecimiento prematuro. Así, personas adultas con ansiedad o depresión, obesidad y con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, presentan esa característica de un mayor estrés oxidativo en sus leucocitos y una inmunosenescencia prematura. Para saber si tal hecho realmente supone un envejecimiento prematuro hay que demostrar que el mismo supone una menor longevidad de los individuos. Esto hay que analizarlo en ratones. Efectivamente, hemos demostrado que en animales adultos con ansiedad, depresión y obesidad, y en transgénicos para la enfermedad de Alzheimer, tiene lugar en sus células inmunitarias un mayor estrés oxidativo y una inmunosenescencia que no aparece en los correspondientes controles, y eso se acompaña de una menor esperanza de

vida.



ESTRATEGIAS PARA UNA LONGEVIDAD SALUDABLE

Una vez establecido que el estrés oxidativo-inflamatorio es el mecanismo que subyace a la inmunosenescencia y ante la propuesta de la participación del sistema inmunitario en ese estrés crónico que experimenta el organismo con el envejecimiento, se pueden plantear estrategias que, mejorando la situación de las células inmunitarias y consecuentemente de los otros sistemas homeostáticos y del organismo en general, puedan repercutir en el mantenimiento de una mejor salud. Además, dado el carácter de marcador de edad biológica que hemos comprobado tiene el estado funcional de las células inmunitarias, dichas intervenciones podrían, al mantener más joven dicha edad biológica, proporcionar una mejor y mayor longevidad a los individuos. Por otra parte, la efectividad de dichas intervenciones apoyaría la hipótesis previamente expuesta de la oxidación-inflamación en el envejecimiento y de la participación del sistema inmunitario en la misma.

De todas las posibles estrategias nos hemos centrado en aquellas más asequibles en el contexto de la vida cotidiana. Así, lo que comemos, la actividad física y mental que hacemos, con quien nos relacionamos, son posibilidades de intervención para alcanzar una longevidad saludable (Figura 3).

Nutrición

Es de todos conocido la inadecuada nutrición que en general tiene el ser humano, especialmente al envejecer. Si partimos de que el envejecimiento es un estrés oxidativo-inflamatorio, parece evidente que una de las estrategias nutricionales sea la utilización de compuestos antioxidantes, muchos de los cuales tienen también un carácter antiinflamatorio. La ingestión de cantidades apropiadas de estos compuestos podrían re-equilibrar el

balance redox celular, disminuyendo el estrés oxidativo-inflamatorio. Dada la disminución en los antioxidantes endógenos al envejecer (muchos empleados en la neutralización del exceso de oxidantes que se van produciendo), su incorporación a nuestro organismo, a través de la dieta o mediante la suplementación de cantidades apropiadas de antioxidantes exógenos, podría ser muy beneficioso. Dentro de los antioxidantes exógenos, son posiblemente los más conocidos la vitamina C, la E, los carotenos o los polifenoles, pero los compuestos con esta capacidad son muy numerosos. Toda una serie de grupos de investigación, incluido el nuestro, han comprobado que esos antioxidantes son necesarios y se utilizan para llevar a cabo una adecuada función de nuestro sistema inmunitario. Así, durante la actuación de las células inmunitarias, éstas van consumiendo sus reservas de antioxidantes. Si consideramos que al envejecer se producen mayores niveles de oxidantes junto a frecuentes estados de malnutrición y una clara disminución de los niveles de defensas antioxidantes, parece evidente que la suplementación con este tipo de compuestos podría tener un efecto beneficioso en la neutralización de dicho estrés oxidativo, consiguiéndose el equilibrio oxidante/antioxidante perdido. Tanto en humanos como en animales de experimentación se ha comprobado que esa ingestión de antioxidantes por individuos viejos o prematuramente envejecidos modifica los parámetros funcionales de los leucocitos, como también lo hacen de los de estado de oxidación e inflamación, dejándolos en niveles similares a los de los adultos. Pero lo más importante es que este "rejuvenecimiento" inmunitario se manifiesta, en los animales de experimentación, con una mayor longevidad.

El papel regulador de los antioxidantes afecta no sólo al sistema inmunitario sino también a los otros sistemas reguladores, como el sistema nervioso, lo cual ha sido

comprobado por diversos investigadores. De hecho, en el modelo de los PAM, la ingestión de antioxidantes mejora no sólo la inmunidad, también la respuesta conductual, lo que prueba que el estrés oxidativo que subyace al deterioro de los sistemas homeostáticos, se neutraliza con la administración de antioxidantes.

Asociado a esta idea de utilizar dietas antioxidantes para mejorar la salud en el proceso de envejecimiento, actualmente hay que considerar el empleo de probióticos. Recientemente se ha conocido el importante papel que tiene la microbiota intestinal en el estado funcional de los sistemas homeostáticos y por tanto en la salud de cada individuo. Teniendo en cuenta que esa microbiota cambia al avanzar la edad, dándose una disbiosis, la utilización de probióticos como estrategia nutricional se hace relevante. Los probióticos, microorganismos vivos que administrados en cantidades adecuadas producen un beneficio al huésped, pueden equilibrar la microbiota autóctona y presentar sus mismas funciones positivas antes indicadas. Aunque hay muy pocos trabajos científicos al respecto, los que se han llevado a cabo demuestran que ciertas cepas de probióticos pueden ser muy útiles para mejorar los sistemas homeostáticos y por tanto la salud de los individuos. Además, se ha comprobado que muchas cepas de probióticos tienen capacidades antioxidantes y anti-inflamatorias, lo que explicaría ese positivo papel en el envejecimiento.

La otra herramienta nutricional que se ha comprobado puede ser efectiva en el proceso de envejecimiento, al limitar la oxidación celular, es la restricción calórica. Esta restricción protege a los animales de experimentación, atenuando la inducción asociada a la edad de genes que codifican productos proinflamatorios y de estrés, aumentando las defensas antioxidantes y reduciendo la oxidación de macromoléculas. La restricción calórica mejora la funcionalidad de las células inmunitarias en el envejecimiento y la de los otros sistemas homeostáticos.

Actividad física

Otra estrategia para llegar a resultados similares de mejora de la función inmunitaria en la vejez es la realización de ejercicio físico moderado. Hay numerosos estudios que han comprobado el importante papel que tiene el ejercicio físico sobre los sistemas homeostáticos. No obstante, la actividad física que resulta beneficiosa es la que se lleva a cabo de forma moderada y de manera más o menos habitual, siendo, por el contrario, bastante perjudicial la que se hace de forma exhaustiva, puntual o con dilatadas sesiones. Este ejercicio intenso, como el que llevan a cabo muchos deportistas de alta competición, puede suponer un estrés añadido que hace envejecer nuestras defensas inmunitarias y nuestro organismo. Aunque los estudios sobre los efectos del ejercicio físico en la vejez son bastante escasos, nosotros hemos podido comprobar que la realización de ejercicios moderados conlleva un mejor estado inmunitario a cualquier edad, pero de forma más evidente al envejecer. En individuos viejos, tanto en animales de experimentación como en humanos, ese ejercicio moderado restaura la función

inmunitaria deteriorada, asemejándola a la de adultos.

Curiosamente los resultados obtenidos en la inmunidad al envejecer, tanto con la ingestión de dietas con antioxidantes como con la realización de ejercicio físico moderado, son muy parecidos. Una posible explicación es que hemos comprobado que el ejercicio moderado favorece, entre otras cosas, el aumento de los niveles de antioxidantes intracelulares en las células inmunitarias, y por consiguiente la función de las mismas. Por su parte, un ejercicio con sobre-entrenamiento produce una disminución de esos niveles intracelulares, con una consecuente menor actividad inmunitaria. De este modo, la realización de ejercicio físico, de forma adecuada, tanto *per se* como por su capacidad de aumentar los niveles de antioxidantes celulares, permitirá recuperar el balance oxidantes/antioxidantes que se ha perdido al envejecer, y de este modo puede incidir positivamente en la función del sistema inmunitario. Pero además, también lo hará en la del sistema nervioso y en la del endocrino, así como en la comunicación entre los tres sistemas reguladores. Todo ello evitará el deterioro homeostático que por el estrés oxidativo va teniendo lugar con la edad, y, consecuentemente, se disminuirá la morbilidad y se mejorará la supervivencia de los individuos.

Control del estrés emocional

La actividad mental y el adecuado control del estrés emocional también mejoran la función inmunitaria y, consecuentemente, pueden ayudar para una longevidad saludable. Es este un campo en el que se está empezando a incidir con estudios científicos bien diseñados. Nuestro grupo ha comprobado que, en personas adultas con estado de ansiedad y depresión, que muestran una inmunosenescencia prematura, ciertas terapias psicológicas son muy útiles para revertirla. También se ha comprobado que la “risoterapia” puede ser efectiva, pero todas estas intervenciones apenas han sido investigadas en el contexto que nos ocupa. Para saber si una estrategia que mejora la función inmunitaria y el estado redox puede incidir en un aumento de longevidad, se requiere el uso de animales de experimentación como los ratones. Una aproximación a las intervenciones comentadas en humanos que puede llevarse a cabo en animales de experimentación es el enriquecimiento ambiental. Tanto el uso de objetos diversos que se introducen en las jaulas, y que se recambian cada poco tiempo, como la utilización de un “spa” para ratones (una estrategia ideada por nuestro grupo) mejoran la función y el estado redox de las células inmunitarias y alargan la longevidad de los animales.

Relaciones sociales

Para especies sociales como es la humana y lo son los roedores utilizados como animales de experimentación, las relaciones sociales pueden ser una fuente de estrés. Tanto el aislamiento como el hacinamiento o la convivencia con individuos enfermos pueden generar alteraciones de los sistemas homeostáticos y por tanto de la salud. Por el contrario la convivencia con sujetos apropiados puede ser una excelente estrategia para una longevidad saludable.

Nuestro grupo ha comprobado que ratones hemicigotos para el gen de la tirosina hidroxilasa, la primera enzima en la síntesis de las catecolaminas, los cuales presentan en la edad adulta alteraciones en los sistemas homeostáticos, con una inmunosenescencia prematura y una menor longevidad que los controles, pueden revertir esas características al convivir con animales controles. También, hemos comprobado recientemente que los ratones cronológicamente viejos, tras dos meses de convivencia con adultos sanos, presentan un rejuvenecimiento de sus sistemas homeostáticos y de su estado redox, consiguiendo aumentar significativamente su esperanza de vida.

CONCLUSIONES

El envejecimiento es un proceso biológico que, aunque sea actualmente inevitable, lo podemos llevar a cabo de una forma saludable. Es evidente que la edad cronológica siempre va avanzando y no se puede hacer que retroceda, pero la edad biológica, que nos indica la velocidad a la que cada individuo envejece, sí se puede “rejuvenecer”. En un momento del proceso de envejecimiento esa edad biológica puede ser elevada, y si no se pone remedio la esperanza de vida será más corta. Pero en esos casos se puede intervenir cambiando ciertos hábitos, con diferentes estrategias de estilo de vida y hacer que esa velocidad sea más lenta, que disminuya la edad biológica y podamos conseguir una longevidad saludable.

El conocer que el sistema inmunitario puede ser un adecuado marcador para determinar la edad biológica de cada persona, permite poder tomar medidas si la misma es mayor de lo que nos corresponde o nos gustaría. Además, nos permitirá saber si los cambios que hacemos en nuestro estilo de vida están siendo de utilidad. Más aún, como se ha comprobado que el estado del sistema inmunitario incide en el estado de salud y, consecuentemente, en la velocidad de envejecimiento, nos interesa que ese sistema sea el mejor posible para que tal velocidad resulte mínima.

Como recomendaciones se podría decir que el evitar hábitos nocivos (exceso de tabaco, alcohol, falta de sueño, etc), hacer una nutrición apropiada, la realización de un ejercicio físico moderado, no olvidar el ejercicio mental, una buena “actitud” ante la vida (con un buen control del estrés emocional) y unas adecuadas relaciones sociales, pueden ser estrategias que mejoren la función y el estado redox de las células inmunitarias y por consiguiente la homeostasis corporal, lo que supone una mejor salud y mayor longevidad.

Aunque se ha avanzado mucho en los últimos años en este campo del envejecimiento, queda aún mucho más por conocer.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Fernandez P, Puerto M, Maté I, Ribera JM, De la Fuente M (2008) Neutrophils of centenarians show function levels similar to those of young adults. *J Am Geriatrics Soc.* 56, 2244-2251.
- Arranz L, Caamano J, Lord JM, De la Fuente M (2010) Preserved immune functions and controlled leukocyte oxidative stress in naturally long-lived mice: Possible role of nuclear factor-kappaB. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 65, 941-950.
- Arranz L, De Castro NM, Baeza I, Maté I, Viveros MP, De la Fuente M (2010) Environmental enrichment improves age-related immune system impairment. Long-term exposure since adulthood increases life span in mice. *Rejuvenation Research.* 13, 415-428.
- Bauer M, De la Fuente M (2016) The role of oxidative and inflammatory stress and persistent viral infections in immunosenescence. *Mech Ageing Dev* 158, 27-37.
- Cruces J, Venero C, Pereda-Perez I, De la Fuente M (2014) A higher anxiety state in old rats after social isolation is associated to an impairment of the immune response. *J Neuroimmunol.* 277,18-25.
- Cruces J, Venero C, Pereda-Pérez I, De la Fuente M (2014) The effect of psychological stress and social isolation on neuroimmunoendocrine communication. *Curr Pharm Des.* 20, 4608-4628.
- De la Fuente M (2009) Teorías del envejecimiento. En: “Retos de la Nutrición en el Siglo XXI ante el Envejecimiento Poblacional”. Varela G, Alonso E (eds). Instituto Tomás Pascual Sanz y Universidad San Pablo CEU. pp:29-48.
- De la Fuente M (2009) ¿Hasta dónde el deporte es saludable?. En: Nuevas miradas sobre el Envejecimiento. Ed: Ministerio de Sanidad y Política Social. Secretaria General de Política Social y Consumo. IMSERSO. Madrid. Pp: 293-320.
- De la Fuente M (2010) Murine models of premature ageing for the study of diet-induced immune changes. Improvement of leukocyte functions in two strains of old prematurely ageing mice by dietary supplementation with sulphur-containing antioxidants. *Proc Nutr Soc.* 69, 651-659.
- De la Fuente M (2011) Los antioxidantes y la función inmunitaria. En: Inmunonutrición. En la salud y la enfermedad. A. Marcos (ed.). Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid. Pp: 254-273.
- De la Fuente M (2014) Crosstalk between the nervous and the immune systems in health and sickness. *Curr Pharm Des.* 20, 4605-4607.
- De la Fuente M (2014) The Immune System, a Marker and Modulator of the Rate of Aging. En: “Immunology of Aging”. Massoud, A., Rezaei, N.(eds). Chapter 2. Pp: 3-23. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- De la Fuente M (2014) Inmunosenescencia. En: “Tratado de Medicina Geriátrica”. Abizanda P. (Ed). Elsevier España. Pp: 134-141.
- De la Fuente M, De Castro NM (2012) Obesity as a model of premature immunosenescence. *Current Immunol Reviews.* 8, 63-75.
- De la Fuente M, Cruces J, Hernandez O, Ortega E (2011) Strategies to improve the functions and redox state of the immune system in aged subjects. *Curr Pharm Des.* 17, 3966-3993.

- De la Fuente M, Miquel J (2009) An update of the oxidation-inflammation theory of aging. The involvement of the immune system in oxi-inflamm-aging. *Curr Pharm Des.* 15, 3003-3026.
- De la Fuente M, Requena T, Perez G (2016) Envejecimiento y Microbiota. En “Probióticos, Prebióticos y Salud. Evidencia Científica”. Alvarez G, Marcos A, Margolles A (eds). Ergon Madrid. Capítulo 24, 183-189.
- Garrido A, Cruces J, Iriarte I, Hernandez-Sanchez C, De Pablo F, De la Fuente M (2017) Premature immunosenescence in catecholamines síntesis déficit mice. Effect of social environment. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* DOI: Doi: 10.1016/j.regg.2016.01.002
- Hunsche C, Hernandez O, De la Fuente M (2016) Impaired immune response in old mice suffering from obesity and premature immunosenescence in adulthood. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 71, 983-991.
- Martinez de Toda I, Mate I, Vida C, Cruces J, De la Fuente M (2016) Immune function parameters as markers of biological age and predictors of longevity. *Aging.* 8, 3110-3119.
- Maté I, Cruces J, Gimenez-Llort L, De la Fuente M (2015) Function and redox state of peritoneal leukocytes as preclinical and prodromic markers in a longitudinal study of triple-transgenic mice for Alzheimer’s disease. *J Alzheimers Dis.* 43, 213-226.
- Maté I, Madrid JA, De la Fuente M (2014) Chronobiology of the neuroimmunoendocrine system and aging. *Curr Pharm Des.* 20, 4642-4655.
- Pacheco G, De la Fuente M (2016) Psiconeuroinmunología. En “Probióticos, Prebióticos y Salud. Evidencia Científica”. Alvarez G, Marcos A, Margolles A (eds). Ergon Madrid. Capítulo 23. Pp.: 173-181.
- Vida C, Gonzalez EM, De la Fuente M (2014) Increase of oxidation and inflammation in nervous and immune systems with aging and anxiety. *Curr Pharm Des.* 20, 4656-4678.

Envejecimiento y reprogramación epigenética

Manel Esteller Badosa

Instituto de Investigación Biomédica de Bellvitge (IDIBELL)

ABSTRACT: Epigenetics of aging is an emerging field that promises exciting revelations in the near future. Epigenetic pathways, including DNA methylation and histone modification, are determinants of normal development and can change during aging. Some of the epigenetic alterations described during aging, as hypermethylation at specific promoters and decrease of global DNA methylation, are also associated with tumor development. The epigenetic changes occurring during development and aging can be stochastic or depend on environmental factors. Future challenges in the field involve the determination of the precise molecular mechanisms that create age-dependent epigenetic variation and how these epigenetic changes affect the aging phenotype.

RESUMEN: La epigenética del envejecimiento es un campo emergente extraordinariamente prometedor. Las vías epigenéticas, la metilación del DNA y la modificación de las histonas, determinan el desarrollo normal y cambian con la edad. Algunas de las alteraciones epigenéticas descritas en el envejecimiento, como la hipermetilación en promotores específicos y la disminución de la metilación global del DNA están también asociadas al desarrollo tumoral. Los cambios epigenéticos que ocurren durante el desarrollo y la vejez pueden ser estocásticos o depender del ambiente. El desafío futuro es estudiar los mecanismos moleculares que originan las variaciones epigenéticas dependientes de la edad y cómo esos cambios afectan al fenotipo en la edad avanzada.

Corresponding Author: mesteller@idibell.cat

An Real Acad Farm Vol. 83, Nº 1 (2017), pp. 116-128

INTRODUCCIÓN

La epigenética, es una frontera de la ciencia, que estudia los cambios hereditarios en la regulación de la actividad y expresión genética que no depende de la secuencia del genoma. Todos nuestros tejidos presentan los mismos genes, pero debido al código epigenético sólo unos pocos se expresan en un determinado tejido y en un determinado momento, dando lugar al fenotipo. Los perfiles epigenéticos específicos condicionan la accesibilidad de los factores de transcripción a la cromatina y facilitan su reconocimiento por parte de los genes, para ser silenciados temporal o permanentemente. Las marcas epigenéticas de la cromatina pueden ser propagadas por mitosis dando lugar a la herencia estable de esos factores reguladores. La modificación epigenética mejor estudiada es la metilación del DNA, en aquellos residuos citosina que van seguidos de un nucleótido guanina. Normalmente, la metilación conduce al silenciamiento del gen, pero puede llevar también a la expresión de genes vecinos. La expresión de genes está también determinada por la organización de las histonas y principalmente por su acetilación, metilación, etc., que puede alterar la accesibilidad al DNA para la transcripción. La longevidad del organismo y el envejecimiento están influenciados por muchos factores complejos que interaccionan, entre los que cabe destacar, el acumulo de mutaciones en los genomas nuclear y mitocondrial, el acortamiento y disfunción de los telómeros, el daño oxidativo al DNA y otras macromoléculas celulares y factores hormonales sistémicos. La epigenética del cáncer ha sido estudiada durante muchos años, pero la epigenética del envejecimiento es una nueva disciplina que promete avances importantes, tales como la definición del metiloma

del DNA y un mapa de modificación de las histonas, que han de ayudar a definir una célula joven *versus* una vieja y caracterizar los enzimas modificadores de la cromatina implicados en el proceso.

¿QUÉ ES LA EPIGENÉTICA?

Aunque nuestro destino está escrito en los genes, ¿qué rol juega el ambiente en lo que somos? Nadie tiene una respuesta definitiva a estos interrogantes, pero hay un campo del conocimiento que puede indagar el vínculo entre la genética y otros factores, como por ejemplo, las condiciones del entorno. Se trata de la *epigenética*, término que significa por encima (epi) de los genes y que fue descrito en 1942 por el paleontólogo y genetista escocés Conrad H Waddington para designar el estudio de las interacciones entre el genotipo y el fenotipo, es decir, entre la información codificada en los genes y aquella que efectivamente se expresa. (1) El objeto de análisis son las modificaciones en la expresión de los genes, y una de las fuentes de cambio es el ambiente. En la actualidad, se entiende como “epigenética” la regulación génica mediada por modificaciones de la estructura de la cromatina (material genético empaquetado alrededor de proteínas), o como aquellos cambios hereditarios en la expresión genética independientes de la secuencia de nucleótidos del DNA (2).

La epigenética son las marcas químicas, que aunque no originan mutaciones, pueden influir en la expresión de los genes. Waddington la concibió como el *análisis causal del desarrollo*, que implicaba las interacciones de los genes con su medio ambiente y desarrolló el concepto del *paisaje epigenético*, que se visualiza como cimas y valles o regiones con alta y baja concentración de marcas

epigenéticas, respectivamente. El paisaje epigenético describe las opciones que una célula madre en un embrión sigue en puntos clave del desarrollo, y se dirige hacia un punto u otro por acción de factores inductores epigenéticos embrionarios o *genes homeóticos* (3). Waddington

percibió que el camino para determinar las características adquiridas por herencia era descubrir las formas existentes de plasticidad en el desarrollo de una población o descubrir que el ambiente podía persuadir a la población para ser canalizada. (Figura 1) (4).

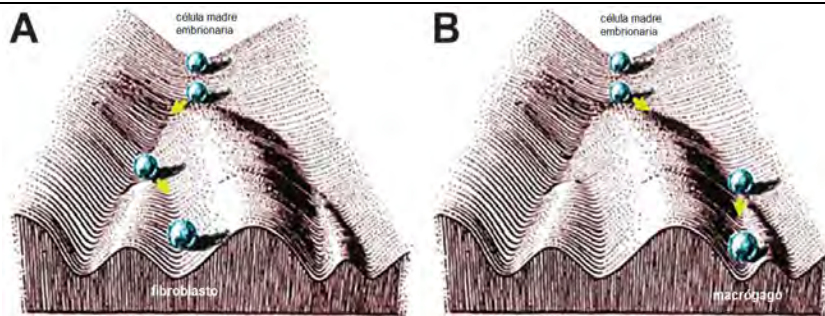


Figura 1. Diagrama de la panorámica del desarrollo de Waddington. La panorámica y la bola en lo alto son de su diagrama original. Las posiciones de la bola se han añadido para ilustrar su idea de que el desarrollo puede ser canalizado siguiendo rutas diferentes (A y B). (4) (diagrama modificado por K Mitchell).

PROPIEDADES DINÁMICAS Y ESTOCÁSTICAS DE LA CROMATINA

La estructura de la cromatina es dinámica y está sometida a grandes remodelaciones durante el desarrollo, el envejecimiento y la enfermedad. Por esta razón, esta remodelación tiene que ver con enfermedades tales como el cáncer y también con la esperanza de vida del organismo. Sin embargo, los cambios estocásticos no determinísticos en la estructura de la cromatina, pueden, en el transcurso del tiempo, contribuir también a alterar la función nuclear, celular y tisular y por consiguiente conducir a la vejez y a sus achaques. La longevidad del organismo y el envejecimiento están influenciados por muchos factores complejos, entre los que cabe destacar: el acumulo de mutaciones en los genomas nuclear y mitocondrial, el acortamiento y disfunción de los telómeros, el daño oxidativo al DNA y a otras macromoléculas celulares y factores hormonales sistémicos (insulina/factor insulínico), la senescencia, la apoptosis y la diferenciación alterada de los tejidos autorrenovables, que dependen de las células madre (5).

La unidad básica repetitiva en la estructura de la cromatina es el nucleosoma, que comprende 146 pares de bases enrolladas alrededor de un octámero de histonas (H1 – H4) (Figura 2). La cromatina se divide en dos tipos, heterocromatina y eucromatina. La eucromatina se descondensa durante la interfase, es activa transcripcionalmente y se replica al inicio de la fase S. Por el contrario, la heterocromatina permanece condensada durante la interfase, es transcripcionalmente silente y se replica más tarde. La heterocromatina se subdivide en dos tipos: constitutiva y facultativa. La constitutiva se encuentra en el DNA pericentromérico y telomérico, es heterocromática en todas las células de un organismo y se ha considerado que es esencialmente fija e irreversible a lo largo de la vida. Por el contrario, la heterocromatina facultativa interviene en los procesos regulados de diferenciación celular u otros cambios en el fenotipo celular. Por ejemplo, un solo cromosoma X se silencia por

heterocromatinización en células de mamífero hembra, para la compensación de la dosis de cromosoma sexual. El que la cromatina forme eucromatina o heterocromatina lo dictan las modificaciones de las histonas y del DNA. Por ejemplo, la acetilación de las colas del N-terminal de las histonas, promueve la formación de eucromatina. A la inversa, la metilación del DNA es característica de la heterocromatina (6, 7).

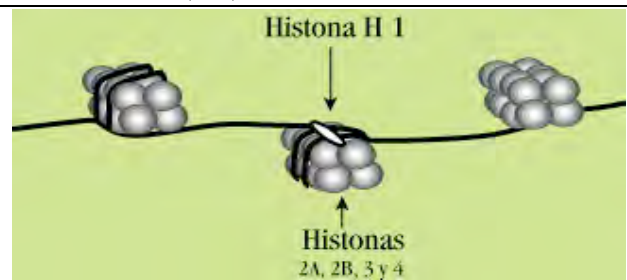


Figura 2. Nucleosoma: 146 pares de bases enrolladas alrededor de un octámero de histonas.

SENESCENCIA CELULAR Y REDISTRIBUCIÓN DE LA CROMATINA

La senescencia celular se caracteriza por una parada irreversible de la proliferación, que se inicia por varios desencadenantes, entre ellos, el excesivo número de divisiones celulares y el acortamiento de los telómeros (senescencia replicativa) (8). Debido a la senescencia, la mayoría de células primarias humanas tienen una vida proliferativa limitada y la senescencia contribuye al envejecimiento del tejido *in vivo* porque limita su autorrenovación celular. Las células senescentes y los marcadores moleculares del fenotipo senescente, aumentan en algunos tejidos y están conectados con patologías asociadas a la edad, como la osteoartritis, la aterosclerosis y la cirrosis hepática. Además, la manipulación de las señales que inician la senescencia, como la longitud de los telómeros y la expresión del inhibidor de la proliferación p16INK4a, pueden modular algunos aspectos del envejecimiento del organismo. La senescencia celular, es también un proceso bien establecido de supresión tumoral,

por su capacidad de frenar la proliferación y la progresión neoplásica en células que acarrean lesiones oncogénicas.

Muchas células senescentes, tanto si son consecuencia de excesivas rondas de proliferación o activadas por oncogenes, muestran grandes cambios en la estructura de la cromatina, porque forman dominios especializados de heterocromatina facultativa, denominados *focos de heterocromatina asociados a la senescencia* (SAHF). Estos SAHF están más condensados que la cromatina de la interfase y contienen modificaciones en las histonas y proteínas asociadas a las características de la heterocromatina. Los SAHF silencian la expresión de genes promotores de la división celular, y así contribuyen a la parada de la proliferación típica de la senescencia. Aunque los SAHF parecen ser el resultado de la condensación de cromosomas casi enteros, las secuencias de DNA que están típicamente contenidas en la heterocromatina constitutiva, tal como los pericentromeros y telómeros, parece que son excluidos del grueso del cromosoma condensado. Esto sugiere que estas regiones heterocromáticas, son quizás desheterocromatinizadas en células senescentes. De acuerdo con esta idea, al menos para los telómeros, María Blasco ha demostrado que los telómeros cortos de ratones que carecen de telomerasa, tienen la heterocromatina reducida cuando se los compara con los telómeros de las células normales (9). Así que, en tanto en cuanto envejece el tejido, la senescencia celular parece estar acompañada por una redistribución de la heterocromatina, desde la heterocromatina constitutiva hasta otros sitios normalmente eucromáticos, específicamente hasta aquellos dominios especializados de heterocromatina facultativa.

CAMBIOS EPIGENÉTICOS DURANTE EL ENVEJECIMIENTO

La modificación epigenética mas estudiada es la *metilación del DNA* en los residuos citosina que van seguidos de un nucleótido guanina. Normalmente, la metilación conduce al silenciamiento del gen, pero puede llevar también a la expresión de genes vecinos. Otra modificación epigenética, es la que determina la organización de las *histonas* (*acetilación, metilación, etc.*), produciendo una alteración en la accesibilidad al DNA para la transcripción.

La *metilación covalente del DNA* en el genoma de mamíferos supone la adición de un grupo metilo al anillo aromático de una base del DNA. Esta reacción está restringida, en mamíferos, al anillo de la citosina del dinucleótido CpG, que da lugar a la 5 metil citosina (5mC), y está catalizada por la DNA metiltransferasa (DNMT), en presencia de un donador de grupos metilos, la S-adenosilmetionina (SAM) (Figura 3). La 5mC puede sufrir una desaminación espontánea y dar lugar a timina (T) lo cual hace que los CpG sean puntos calientes para la mutación y se eliminen poco a poco durante la evolución.

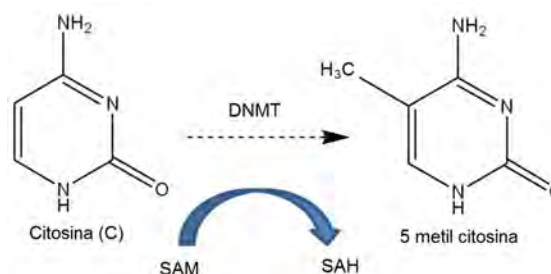


Figura 3. Metilación de la citosina mediante la actividad enzimática de la (DNMT) en presencia de un agente donador de grupos metilos la S adenosilmetionina (SAM).

La metilación del genoma origina el silenciamiento de determinadas áreas del DNA. Hay dos tipos de metilación, la metilación de mantenimiento y la metilación *de novo*. La primera añade grupos metilo a cadenas de DNA recientemente sintetizadas en puntos *opuestos* a los sitios metilados en la cadena madre. Esta actividad asegura que las moléculas hijas de DNA mantengan un perfil de metilación después de la división celular. La metilación *de novo*, añade grupos metilo en posiciones nuevas, cambiando el del perfil de metilación en una región localizada del genoma. Los genes que se deben expresar en los tejidos, tienen regiones no metiladas conocidas como islas CpG, localizadas en la dirección opuesta a los genes. Los genes que se deben silenciar en los tejidos diferenciados tienen metiladas las islas CpC, lo que permite que un complejo histona-desacetilasa (HDAC), se una y comprima la forma del material genómico e inactive el gen. Las islas CpG son regiones del DNA que poseen dinucleótidos de citosina y guanina en elevada frecuencia, y su metilación cerca o dentro de los promotores de los genes es lo que causa el silenciamiento de dichos genes (10). Dado que envejecimiento y cáncer presentan alteraciones epigenéticas que convergen en algunos casos, interesa conocer la función y la significación biológica de las alteraciones epigenéticas que se acumulan durante el envejecimiento y son importantes en la tumorigénesis. Ejemplos los proporcionan la pérdida global de la metilación del DNA en el envejecimiento y en el cáncer por el promotor de la hipermetilación de genes con un papel dual en la supresión tumoral y en la progeria (11).

La *modificación de la cromatina* es el segundo y más complejo aspecto de la epigenética. Las protagonistas aquí son las histonas, las proteínas básicas que forman el nucleosoma (Figura 2).

Las histonas H2A, H2B, H3 y H4, junto con 147 pares de bases de DNA genómico, que se enrollan alrededor de los nucleosomas, son las unidades básicas de la cromatina. Las interacciones entre el DNA y las histonas conducen a un elevado grado de condensación que impide la transcripción génica. La *modificación epigenética de las histonas*, tiene un perfil definido durante el envejecimiento y la transformación celular. Las sirtuínas, una familia de desacetilasas dependientes de NAD, actúan sobre la lisina (K) 16 de la histona 4, y se les considera que establecen una conexión entre la transformación celular y la longevidad. Por ejemplo, la trimetilación de la H4-K20,

está enriquecida en células indiferenciadas, se eleva con la edad, y está normalmente reducida en células cancerosas (Figura 4). Es curioso observar que la trimetilación de la H4-K20, se reduce después del tratamiento con el hepatocarcinógeno tamoxifeno. La pérdida de la H4-K20 trimetilada en células cancerosas puede estar causada por la pérdida de expresión de la metiltransferasa específica de H4-K20, Suv4-20h (homólogo 4-20 del supresor de la variegación de la *Drosophila*), la pérdida del supresor de tumores retinoblastoma, o la alteración de otros enzimas modificadores de las histonas. El incremento de la H4-K20 trimetilada en células envejecidas se ha asociado con defectos en la lamina nuclear, pero existen pocos datos sobre los mecanismos moleculares que conectan las laminas nucleares con la maquinaria modificadora de histonas. Sin embargo, existe una asociación entre las alteraciones de las laminas nucleares y la morfología nuclear alterada. En este aspecto, se ha observado que la alteración de FACE1, metaloproteasa implicada en la maduración proteolítica del precursor de la lamina A, se asocia con la vejez prematura y con la disrupción de la integridad de la envuelta nuclear. No se sabe si las alteraciones nucleares dependientes de lamina se asocian con alteraciones epigenéticas, aunque se observan también alteraciones en la morfología nuclear en células humanas deficientes en DNMT (10, 12).

DISCORDANCIA EPIGENÉTICA Y VARIABILIDAD FENOTÍPICA

La interacción de los factores medioambientales con la discordancia fenotípica entre gemelos monocigóticos (MZ), fueron observadas hace muchos años (13), sin embargo, poco se sabía entonces de los mecanismos moleculares mediante los cuales los factores medioambientales podían de manera permanente, o transitoria, influenciar la función genética. Posteriormente, datos obtenidos de gemelos monocigóticos (MZ), han proporcionado evidencias que corroboran que las variantes epigenéticas se acumulan con la edad de manera independiente de la secuencia genética (14). Este estudio analizó la contribución epigenética a la discordancia entre gemelos y aclaró el efecto de las características ambientales sobre la función genética. Hasta la fecha se han analizado en una gran cantidad de gemelos homocigóticos, las diferencias globales, la metilación específica del DNA y la modificación de las histonas. Los datos obtenidos han revelado un cambio epigenético entre estos hermanos MZ durante el envejecimiento, que se asoció con discordancias fenotípicas, las cuales fueron atribuida a un ambiente no compartido (15, 16). Existen evidencias experimentales de la modulación epigenética en respuesta a factores ambientales y a partir de otras fuentes. Ejemplos incluyen un ambiente intrauterino anormal asociado con la regulación de genes implicados en la función de las células beta pancreáticas y la dieta materna, respecto al perfil de metilación del DNA de la descendencia. Existen cambios epigenéticos que ocurren durante el desarrollo ontogénico, que no se pueden explicar solo por factores ambientales, tales como en

animales gemelos y endogámicos, cuando las diferencias fenotípicas ocurren en ausencia de diferencias ambientales y también cuando estas diferencias ambientales no aumentan significativamente el grado de variación fenotípica. Esto demuestra que, aparte del medioambiente, se requieren otros componentes para conseguir la variabilidad fenotípica. Éstos pueden ser el resultado de una clase de recombinación epigenética estocástica, también conocida como el *tercer componente*, después de la reproducción sexual. La hipótesis del tercer componente está en consonancia con el concepto de epigenotipos múltiples tales como variaciones epigenéticas intraindividuales (específicas de los tejidos), e interindividuales, que pueden explicar los diferentes perfiles encontrados incluso entre individuos jóvenes (17). Como la función genética y la estructura de la cromatina pueden ser moduladas por medio de modificaciones químicas en el DNA y en las histonas que lo acompañan, la idea de que el medio ambiente pueda provocar respuestas fenotípicas mediadas por factores epigenéticos resulta muy atractiva. No obstante, los mecanismos precisos mediante los cuales el ambiente puede generar estas respuestas fenotípicas adaptativas no se conoce todavía y representa un área de extraordinario interés.

Las consecuencias de los cambios epigenéticos asociados al envejecimiento se han estudiado con profundidad en levadura. En este organismo la redistribución de Sir2 y las proteínas heterocromáticas, contrarrestan el proceso del envejecimiento. La consecuencia de los varios modos de regulación epigenética asociada a la edad en mamíferos, permanece de alguna manera especulativa. Sin embargo, el envejecimiento va acompañado por varios fenotipos alterados que pueden estar conectados con los cambios epigenéticos asociados a la edad. Estudios pioneros de Richard Doll *et al.*, (18) en los pasados sesenta, indicaron que la edad se asociaba con la aneuploidia celular. Como la propia segregación cromosómica depende de la estructura y función de la heterocromatina constitutiva pericéntrica, la disminución en la metilación del DNA y la desheterocromatinización de secuencias pericentroméricas repetitivas, pueden contribuir a la segregación cromosómica defectuosa y a la aneuploidia asociada a la edad. Estudios más recientes en levadura han demostrado que la aneuploidia confiere varios fenotipos celulares alterados, incluyendo una alteración proliferativa, que puede contribuir a la disminución de la capacidad de renovación tisular con la edad. La aneuploidia puede también promover el cáncer, enfermedad para la cual el envejecimiento es el principal factor de riesgo (19). El envejecimiento está también acompañado con cambios de expresión génica. Es importante destacar que alguno de estos cambios parece que tiene un componente estocástico. Por ejemplo, el envejecimiento está asociado con una variabilidad incrementada en la expresión génica en cardiomiocitos. Las células madre hematopoyéticas viejas también exhiben cambios en la expresión génica. Estos cambios son consistentes con una predisposición hacia la

diferenciación mieloide y parecen asemejarse al cambio de linfóide a mieloide, que va unido al envejecimiento del sistema inmune y contribuye al declinar de la inmunidad adaptativa. No está claro si estas modificaciones asociadas a la edad se deben a alteraciones epigenéticas o a alteraciones genéticas (acúmulo en el daño al DNA), pero es posible que la epigenética cuente en una buena parte. De acuerdo con esta posibilidad, están las divergencias dependientes de la edad, en el perfil de metilación del DNA y acetilación de las histonas, en parejas de los gemelos MZ, antes citados. En este estudio con gemelos, aquellos genes que estaban modificados de manera diferente se expresaron también de manera diferente, lo que sugiere que la divergencia epigenética dependiente de la edad en individuos genéticamente idénticos conduce a la divergencia de los perfiles de expresión génica (14).

La metilación de las islas CpG dependiente del envejecimiento, puede presentar profundas consecuencias funcionales, en los supresores *INK4a* y *VHL* que preceden al desarrollo de cambios neoplásicos en la organización tisular. Si una consecuencia de esta metilación de los CpG es silenciar genes supresores de tumores, proceso desventajoso para el organismo, es posible que esté conectado a otros cambios beneficiosos en la estructura de la cromatina, pero refleja una dirección estocástica no determinada de este proceso. Por ejemplo, si los focos de heterocromatina asociados a la senescencia (SAHF) contribuyen al fenotipo senescente, han de contribuir en primer lugar a la supresión tumoral mediada por la senescencia. Sin embargo, los errores estocásticos en los procesos de ensamblaje de los SAHF, pueden contribuir de manera errónea a la metilación de las islas CpG en los promotores de algunos genes supresores de tumores, teniendo en cuenta el silenciamiento de estos genes en el envejecimiento. Si estos errores epigenéticos estocásticos, ocurren solo como raras mutaciones genéticas, deben conferir la primera ventaja selectiva en el camino hacia el cáncer.

DNA METILOMAS, ENVEJECIMIENTO Y CÁNCER

El perfil de metilación del DNA se hereda con una gran fidelidad en la célula normal, en cada ronda de división celular, y está asegurada por las DNA metiltransferasas (DNMT). Sin embargo, la célula vieja sufre un cambio en la metilación del DNA (Figura 4). Está demostrado que la metilación global del DNA disminuye en el envejecimiento en muchos tipos de tejidos (20) y se ha observado, que los fibroblastos de mamíferos cultivados hasta la senescencia, sufrían una mayor pérdida de la metilación del DNA. La pérdida de la metilación del DNA en la vejez se debe probablemente a la desmetilación pasiva de la heterocromatina, como consecuencia de una pérdida progresiva de la eficacia de las DNMT o de la expresión errónea del enzima por otros cofactores. Es también posible que la respuesta natural de la célula a la pérdida de la metilación del DNA, en secuencias repetidas del DNA, sea la sobreexpresión *de novo* de la metilasa del DNA, DNMT3b, como se ha encontrado en fibroblastos en

cultivo. Un resultado lógico de la sobreexpresión de DNMT3b es que regiones tales como las islas CpG, que se encuentran no metiladas en células normales, sean hipermetiladas de manera aberrante, en los genes humanos *MUTL* homólogo 1 *MutL* (*MLH1*) y *p14ARF*. Curiosamente, la hipometilación global del DNA, la aberrante hipermetilación y la modesta sobreexpresión de la DNMT3b, son alteraciones epigenéticas conocidas en cáncer. Así que, el acumulo de alteraciones epigenéticas durante el envejecimiento puede contribuir a la transformación tumorigénica (12).

Varias regiones del DNA genómico se hipermetilan con la edad. Por ejemplo, se ha detectado un incremento en metilcitosina dentro de los grupos de DNA ribosómico en hígado de ratas viejas, que puede asociarse con la disminución de los niveles del RNA durante el envejecimiento. La metilación de las islas CpG en tejidos no tumorigénicos se ha descrito para varios genes, incluyendo el receptor de estrógenos (ER), el antígeno de diferenciación miogénica 1 (MYOD1), el factor de crecimiento insulínico II (IGF2) y el candidato 33 supresor tumoral (N33). En algunos casos, tales como *MLH1* y *p14ARF*, la hipermetilación del promotor fue más común en tejidos envejecidos. Un estudio mas reciente ha encontrado hipermetilación en el promotor de los genes supresores de tumores lisil oxidasa (*LOX*), *p16INK4a*, factor de transcripción 3 relacionado con runt (*RUNX3*), y el gen inducible TPA (*TIG1*), en mucosa gástrica no neoplásica, que se relacionó significativamente con el envejecimiento (12).

Aunque es posible asociar el acumulo de la metilación en los promotores de los genes supresores de tumores durante el envejecimiento, con la predisposición a desarrollar cáncer, no existe evidencia experimental de una relación directa entre estos genes y el envejecimiento (12). La regulación del *locus INK4/ARF* durante el envejecimiento reclama atención especial, porque la región promotora del gen *p16INK4a* gana un número mayor de islas CpG metiladas en tejidos normales envejecidos. Aunque todavía no se ha investigado, la hipermetilación en el interior de este promotor, se sugiere que *p16INK4a* se encuentra reducido en células viejas. Por otra parte, la expresión de *p16INK4a* se sabe que aumenta con la edad en mamíferos y lo más notable es que su regulación (activación) está directamente implicada en la disminución del potencial de autorrenovación de algunas células madre maduras. Así que, la regulación del *locus INK4/ARF* tiene que tener un papel importante en el envejecimiento y el cáncer. Durante el envejecimiento *INK4/ARF* puede llegar a hipermetilarse y a veces cuando la hipermetilación es extensa y densa en las islas CpG del promotor, el *locus* puede ser reprimido, favoreciendo así la transformación maligna. Al mismo tiempo, este *locus* parece estar epigenética e independientemente activado durante el envejecimiento en un proceso que puede tener un papel directo en el menor del potencial proliferativo de células progenitoras maduras (12).

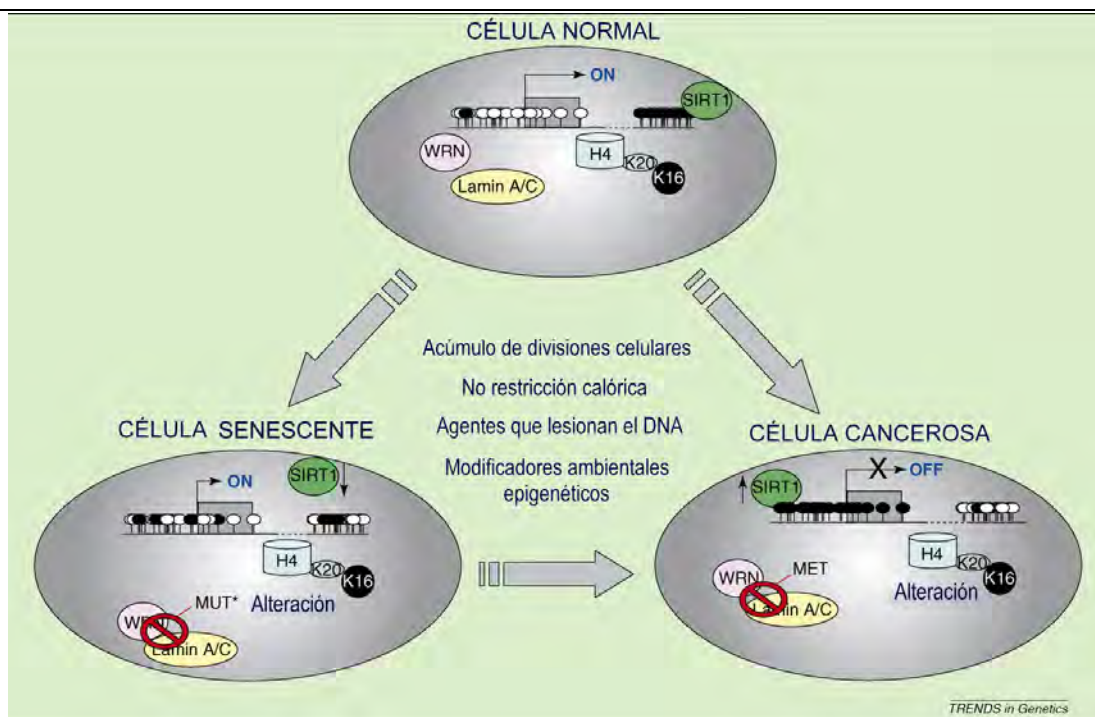


Figura 4. Epigenomas de células normales, senescentes y cancerosas. Los círculos blancos y negros indican dinucleótidos no metilados y metilados, respectivamente. Las células sanas tienen una disposición epigenética caracterizada por secuencias repetitivas con densa metilación del DNA, islas CpG no metiladas de genes constitutivos, y elevados niveles de lisina 16 monoacetilada y lisina 20 trimetilada en la histona H4. Las células cancerosas sufren hipometilación en secuencias repetitivas de DNA, hipermetilación en CpG de los genes supresores de tumores asociados con el silenciamiento transcripcional, reclutamiento de DNMT y SIRT1 en estos locus y reducción de las formas lisina 16 monoacetilada y lisina 20 trimetilada, de la histona H4. En las células senescentes debe haber una pérdida progresiva de citosinas metiladas en las regiones repetitivas y la presencia de sitios de 5-metilcitosina en las regiones promotoras, acompañados por una disminución en la actividad SIRT1. Genes relacionados con el envejecimiento, tales como WRN y lámina A/C, que funcionan correctamente en la célula joven sana, pueden convertirse en hipermetilados y silenciados en células cancerosas o tener mutaciones en la línea germinal (MUT*) en casos de síndromes progeroides, como el de Werner (WRN) o la progeria de Hutchinson–Gilford (lamin A/C) (Fraga y Esteller 2006) (12).

SILENCIAMIENTO EPIGENÉTICO DE LOS GENES PROGEROIDES

Los síndromes progeroides comprenden un grupo de enfermedades caracterizadas por rasgos clínicos de envejecimiento prematuro. Dos de las entidades clínicas reconocidas son el síndrome de Werner y la progeria de Hutchinson–Gilford, asociadas con mutaciones genéticas en el gen *WRN*, que codifica un miembro de la familia de RECQ de helicasas, y el de la lamina nuclear A/C (*LMNA*), respectivamente. Se ha demostrado que la inactivación epigenética de los genes progeroides, *WRN* y *LMNA*, pueden también contribuir a la transformación maligna (Figura 4). El gen *LMNA* fue el primer gen conocido implicado en el envejecimiento, que exhibe actividad supresora de tumores y está frecuentemente reprimido en cáncer por hipermetilación del promotor. La lamina nuclear se localiza en el lado interno de la membrana nuclear y consiste en filamentos del intermediario lamina tipo A y B. Las laminas nucleares son muy dinámicas sugiriéndose que están implicadas en el posicionamiento, no al azar, de los dominios subcromosómicos en la organización total de la cromatina y posiblemente en la regulación de la expresión génica. Las laminas se agrupan en las dos subfamilias

anteriormente mencionadas: tipo A, cuyos miembros se expresan en la mayoría de las células somáticas diferenciadas; y tipo B, cuyos miembros se expresan en casi todas las células y son esenciales para la viabilidad celular. El gen lamina A/C codifica las laminas A y C, dos isoformas que surgen como resultado de una rotura del RNA alternativo. Aunque las del tipo A son importantes en el mantenimiento de la estabilidad de las laminas nucleares, también tienen un papel central en el control de la expresión genética. Las mutaciones en el gen lamina A/C causa varias enfermedades hereditarias específicas de tejidos, como el síndrome de distrofia muscular Emery–Dreifuss y la lipodistrofia familiar parcial tipo Dunnigan. Es interesante destacar que la represión del gen de lamina A/C en leucemia y linfoma está frecuentemente asociado con la metilación de su promotor. Otras proteínas asociadas a lamina, tal como LAP2a, se han asociado también con la tumorigénesis; sin embargo, los mecanismos precisos moleculares mediante los cuales las laminas contribuyen al cáncer están todavía poco claros.

El síndrome de Werner proporciona otro ejemplo de un gen implicado directamente en el envejecimiento y con propiedades de supresor tumoral. El síndrome de Werner es una enfermedad d hereditaria autosómica recesiva rara,

que se caracteriza por un prematuro envejecimiento, inestabilidad genómica y un incremento en la incidencia del cáncer. Esta patología está causada por la pérdida de función del gen *WRN*, que codifica una proteína miembro de la familia RecQ con actividad helicasa y exonucleasa. Los rasgos indicativos del envejecimiento acelerado, incluyen cataratas, diabetes tipo 2, osteoporosis, varias formas de arterioesclerosis e hipogonadismo a una edad relativamente temprana. La proteína *WRN* ejerce un papel importante en muchas vías diferentes, tales como las mediadas por p53, la replicación del DNA, la reparación del DNA y el metabolismo de los telómeros. Se ha sugerido que la familia de proteínas RECQ tiene propiedades supresoras de tumores, y se ha demostrado que la expresión de *WRN* está frecuentemente reprimida en cáncer humano, por hipermetilación de las islas CpG del promotor. Incluso es más interesante el hecho que el tipo de los neoplasmas que ocurre en pacientes con el síndrome de Werner es notablemente diferente al de aquellos observados en individuos que no padecían el síndrome. Así, el cociente cáncer mesenquimático/cáncer epitelial es 1:1, mientras que en la población normal senescente es de 1:10. Por tanto, parece que el proceso acelerado del envejecimiento en pacientes con el síndrome de Werner contribuye a la mayor incidencia en tumores, pero la pérdida específica del gen *WRN* confiere un fenotipo particular propenso a tumores, de manera similar a la observada con otros genes supresores familiares con función reparadora del DNA, tal como *MLH1* (12, 21).

SIRTUINAS Y SU RELACIÓN CON EL ENVEJECIMIENTO Y EL CÁNCER

Se han descrito otros mecanismos epigenéticos que están potencialmente implicados en el envejecimiento y el cáncer. De estos, merece atención especial la familia de enzimas epigenéticos con actividad histona desacetilasa (HDAC), conocidos como sirtuinas. La acetilación de las histonas es crucial para el control de la estructura de la cromatina y para la regulación de la expresión génica. Las sirtuinas, que comprenden la clase III de la familia de las HDAC, dependientes del NAD (nicotinamido adenina dinucleótido), se encuentran implicadas en eventos celulares múltiples, entre los que se incluyen la remodelación de la cromatina, el silenciamiento transcripcional, la mitosis y el control de la longevidad. El primer miembro de la familia, SIR2 (regulador silente de la información 2), fue inicialmente descrito en levadura. Los enzimas SIR2, catalizan una reacción que implica la rotura del NAD. La delección de SIR2 acorta la vida de la levadura, mientras que una copia extra del gen la alarga, lo que implica que la familia SIR2 juega un importante papel en el envejecimiento y en la longevidad. La importancia del NAD en muchas vías metabólicas, y el hecho de que las sirtuinas puedan controlar la actividad de muchas otras proteínas que intervienen en el crecimiento celular, sugiere que la familia SIR2 se encuentra implicada en la longevidad mediada por restricción calórica (22). Se ha sugerido que el flujo de carbono en la glucólisis y el ciclo tricarboxílico están muy reducidos en condiciones de

restricción calórica y de esta manera SIR2 dispone de más cantidad de NAD para ejercer su actividad catalítica. Esto demuestra que las SIR2 establecen conexión entre el ritmo metabólico y el envejecimiento, mediante la regulación de genes que dependen del NAD y la remodelación de la cromatina. La longevidad alcanzada por restricción calórica requiere SIR2 y se acompaña por un incremento en la respiración, el cual, a su vez, eleva la actividad de las SIR2. Esta evidencia ha provocado un interés considerable en estas proteínas de mamíferos, que comprenden siete homólogos de la SIR2 de levadura: las sirtuinas 1–7 (SIRT1–7), que juegan papeles importantes en la expresión de genes, en la respuesta al estrés, reparación del DNA, apoptosis, ciclo celular, estabilidad genómica y regulación de la insulina. Por tanto, las sirtuinas intervienen en el control de vías metabólicas y en la regulación del crecimiento celular y el cáncer. Entre los miembros de esta familia, SIRT1 y SIRT2 son de interés particular porque se ha descrito que están alteradas en células cancerosas, que su expresión puede depender del envejecimiento y que actúan sobre las colas de las histonas.

La proteína SIRT1 muestra actividad desacetilasa dependiente de NAD, similar a la de SIR2 de la levadura. En mamíferos SIRT1 puede actuar sobre las histonas, principalmente sobre las posiciones H4-K16 y H3-K9, y también sobre factores de transcripción claves, como la proteína supresora de tumores p53, factores de transcripción forkhead (FOXO), histona p300 acetiltransferasa, el supresor tumoral p73, el factor de transcripción E2F1, la subunidad del antígeno de 70 kDa (Ku70) del factor de reparación del DNA, el factor nuclear kappa B (NF-κB) y el receptor de andrógenos (AR). SIRT1 se expresa ampliamente en la mayoría de los tejidos y se inhibe en células senescentes y durante el envejecimiento. SIRT1 se activa en carcinomas de pulmón, linfomas y sarcomas de tejidos de ratón, y en cáncer de pulmón, cáncer de próstata y leucemia en humanos. Más importante aún es que las histonas dianas de SIRT1, H4-K16 y H3-K9 están alteradas en varios tipos de tumor. Las células cancerosas tienen un nivel más bajo de H4-K16 monoacetilada y la hipoacetilación de H3-K9 se asocia con mayor riesgo de recurrencia en cáncer de próstata. Como SIRT1 puede desacetilar específicamente estas posiciones, su regulación en tumorigenesis podría contribuir al establecimiento del perfil específico de modificación de histonas en cáncer. En el caso de la H4-K16 monoacetilada, SIRT1 actúa como activadora a nivel del promotor del gen. De este modo, puede ser modulada la influencia de las alteraciones de SIRT1 en la H4-K16 acetilada global puede ser modulada. De hecho, una porción sustancial de las histonas H4-K16 monoacetiladas, que se pierden en células cancerosas, puede proceder de la acetilación de otras lisinas de la cola de histona y del incremento de la cantidad de isoformas H4 poliacetiladas (22).

La activación de la proteína SIRT1 en algunos tipos de tumor y su relación con la proliferación y esperanza de vida, sugiere que esta desacetilasa dependiente de NAD,

puede estar directamente implicada en la tumorigénesis. El potencial oncogénico de SIRT1 es el resultado de su papel en el control de varias moléculas cruciales. La relación más obvia con el cáncer es probablemente su capacidad de desacetilar e inactivar los genes supresores de tumores p53 y p73, aunque se ha implicado también en otros mecanismos como la desacetilación de las histonas H4-K16 localizadas dentro de los promotores de los genes supresores de tumores y otros factores como E2F1, Ku70, FOXO, el receptor de andrógenos y el NfκB (23).

SILENCIAMIENTO EPIGENÉTICO POR lncRNA

Los genes que codifican proteínas ocupan solo el 2 % del genoma humano, el otro 98 % se ha considerado durante mucho tiempo como “DNA basura” hasta que el proyecto de la enciclopedia de los elementos DNA (ENCODE) y el consorcio funcional del genoma de mamíferos (FANTOM) hizo sus primeras publicaciones. Con estos estudios se han identificado, mediante análisis transcriptómicos un gran número de nuevos transcritos denominados RNA no codificantes (ncRNA), procedentes de las regiones del DNA consideradas “basura”. En los últimos años el estudio de la función de los genes y su relevancia en enfermedades se ha enriquecido enormemente con el descubrimiento de estos mini genes, que si bien no producen proteínas con las que se estructuran los organismos, generan unas pequeñas moléculas de RNA capaces de regular la mayor parte de los genes de nuestras células. Estos ncRNA son una clase abundante de pequeños RNA endógenos, evolutivamente conservados, que regulan los mRNA por mecanismos tales como emparejamiento de bases y silenciamiento post-transcripcional de genes. En base a la longitud de estos transcritos, los ncRNA se han dividido en ncRNA pequeños o micro RNA (miRNA) y ncRNA grandes (lncRNAs).

Los miRNA, de unos 22 nucleótidos de tamaño, regulan la expresión génica post transcripcional, al afectar la degradación y traducción de los mRNA. Los miRNA juegan un papel importante en el crecimiento celular, diferenciación, proliferación, apoptosis y polarización de neuronas. Hasta un 30 % de genes humanos están probablemente regulados por los miRNA y cada uno de ellos puede controlar cientos de genes. Sin embargo, solo unos pocos de estos genes han sido confirmados hasta la fecha para un miRNA particular. La patogénesis de muchas enfermedades tales como cardíacas, cáncer y autoinmunes se relaciona con la expresión aberrante de genes regulados potencialmente por miRNA (24, 25).

Los lncRNA son la clase principal de ncRNA heterogéneos con magnitudes de más de 200 nucleótidos. Se les reconoce ahora como nuevos reguladores en múltiples procesos celulares: desarrollo, diferenciación, remodelación cromosómica, *imprinting* y control del ciclo celular. Se ha demostrado que los lncRNA se encuentran muy regulados y son muy específicos de cada tejido. Además la alteración de los lncRNA se ha asociado con enfermedades tales como cáncer y enfermedades

neurodegenerativas. Sin embargo, la función de la mayoría de los lncRNA permanece sin caracterizar (24, 25).

Los rasgos del envejecimiento están gobernados mediante cambios en subgrupos de proteínas. Los lncRNA pueden modular la expresión del perfil de las proteínas, controlando la transcripción genética, la estabilidad del mRNA y la abundancia de proteínas. La influencia de los lncRNA modula los eventos moleculares clave implicados en el envejecimiento, entre los que se incluyen la longitud telomérica, la expresión epigenética de los genes, la proteostasis, la función de las células madre, la comunicación intercelular, la proliferación celular y la senescencia celular. Existen evidencias, que apoyan que los lncRNA, ejercen un efecto sobre el declinar fisiológico de la vejez y las patologías asociadas. Por tanto, existe gran interés en el diagnóstico, pronóstico y valor terapéutico de los lncRNA. La fácil detección de los lncRNA en fluidos biológicos, y el fácil diseño de moléculas que eleven o disminuyan sus niveles, los hacen muy atractivos como dianas clínicas. Sin embargo, la utilidad potencial de los lncRNAs sobre las disfunciones y enfermedades asociadas a la vejez no puede hacerse realidad en la actualidad (26). Primero, porque se necesita un mayor conocimiento de los lncRNA, su modelo espacio temporal de expresión, las moléculas con las que interactúan (proteínas, DNA y RNA), y el impacto de alterar su abundancia sobre la función celular. Segundo, porque hay que desarrollar modelos animales apropiados para estudiar su función en tejidos, órganos y sistemas, y evaluar cómo actúan sobre el envejecimiento. El avance en estas áreas proporcionara mayor conocimiento molecular con intervenciones efectivas para mejorar las patologías de la edad avanzada (27).

EVOLUCIÓN EPIGENÉTICA ENTRE ENVEJECIMIENTO Y CÁNCER

La señalización anormal epigenética juega un papel importante en la tumorigénesis y además, los cambios epigenéticos pueden ser determinantes importantes en la senescencia celular y el envejecimiento del organismo. Se ha comentado anteriormente, que las modificaciones epigenéticas mejor conocidas son la metilación del DNA y las modificaciones post-transcripcionales de las histonas, tales como metilación, acetilación, ubiquitinación, ADP ribosilación, fosforilación, etc. Diversas alteraciones epigenéticas, tales como la hipometilación global y la hipermetilación de los islotes CpG, se acumulan progresivamente durante el envejecimiento y contribuyen directamente a la transformación celular. Aunque el campo de las modificaciones epigenéticas en cáncer ha sido intensamente estudiado, no ocurre lo mismo con el envejecimiento. La epigenética del envejecimiento es una disciplina que en el momento actual se encuentra en estado emergente, lo que hace concebir grandes esperanzas en las revelaciones futuras, que han de presentar un enorme interés y ser de gran utilidad por su gran repercusión a nivel patológico y social (28, 29). Interesa saber la significación biológica de las alteraciones epigenéticas en términos de sus relativas contribuciones al desarrollo

ontogénico, la senescencia y la proliferación celular. También interesa conocer cuáles son las alteraciones epigenéticas que se acumulan por efecto de la vejez y tienen un papel directo en la transformación celular, y aquellas modificaciones epigenéticas que muestran una clara evolución durante el envejecimiento, que se invierten en cáncer (30). El ejemplo mejor conocido del primer caso, es la pérdida global de metilación del DNA en envejecimiento y en cáncer y la hipermetilación del promotor de genes con un doble papel en la supresión tumoral y en la progeria, tales como *WRN* y *LNMA*. Uno de los ejemplos más estudiados del segundo caso es probablemente la longitud telomérica que puede ser

controlada por modificaciones epigenéticas y decrece con la edad, pero se eleva rápidamente después de la transformación (31). Recientemente se ha descrito que la actividad de varios miembros de la familia de sirtuínas, que actúan sobre las histonas, disminuye en el envejecimiento, mientras que se eleva en células cancerosas. Como las sirtuínas se ha propuesto que establecen una relación entre la restricción de la dieta y la longevidad, considerando el papel específico de varios miembros de esta familia en la tumorigénesis, surge la posibilidad que las sirtuínas establezcan también conexión entre la dieta y el cáncer (Figura 5) (28).

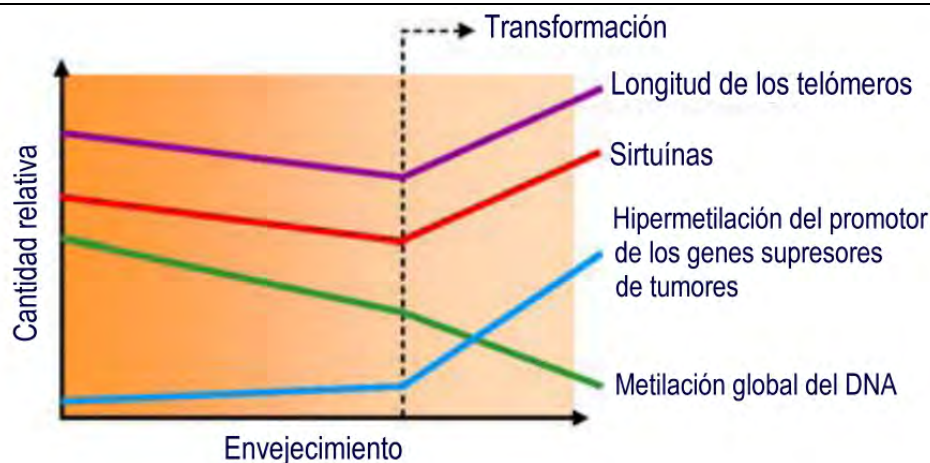


Figura 5. Evolución de los mecanismos moleculares relacionados con la epigenética durante el envejecimiento y el cáncer (Fraga, Agrelo y Esteller 2007) (28).

FÁRMACOS EPIGENÉTICOS

Entre las dianas terapéuticas epigenéticas, las metiltransferasas del DNA y las desacetilasas de las histonas, son en la actualidad las más estudiadas en lo que se refiere a nuevos fármacos. Los perfiles de metilación del DNA son relativamente maleables y la exploración de las marcas epigenéticas está siendo en la actualidad un medio útil de detección temprana y diagnóstico. Como las alteraciones en las modificaciones epigenéticas son reversibles, los fármacos epigenéticos que revierten la metilación aberrante del DNA, inhibiendo la actividad de las DNMT o la de los enzimas que modifican las histonas, específicamente las HDAC, ya son quimioterapias aprobadas para algunas clases de cáncer. Como el epigenoma puede también ser modulado por la dieta, la prevención es un campo emergente de investigación para enfermedades asociadas a la edad. Por ejemplo, las modificaciones epigenéticas responsables de la enfermedad de Alzheimer (AD), en los genes implicados en la memoria y el aprendizaje, se ha demostrado que están hipometiladas en esta enfermedad. Por tanto, se ha postulado que el suplemento dietético con agentes donadores de metilo, como el ácido fólico (precursor de la SAM), puede ayudar a restaurar la capacidad cognitiva que declina con la edad (31). Los inhibidores de la HDAC se ha demostrado que poseen relevancia clínica potencial en

la AD; así, el ácido valproico, reduce la producción del β -amiloide y alivia los déficits de comportamiento en modelos murinos de AD (Figura 6). Como los fármacos que revierten las modificaciones epigenéticas anómalas no son específicos, hay de tratar de buscar la especificidad para mejorar la terapéutica epigenética. También hay que considerar que un epigenoma individual puede ser modulado por dietas sanas y un estilo de vida saludable, que reducen el riesgo de enfermedad y los achaques propios de la vejez (32). Componentes fitoquímicos como el resveratrol (activador de las sirtuínas) y la curcumina (poderoso antioxidante), están siendo considerados y recomendados por sus efectos sobre el envejecimiento y la calidad de vida.

En la actualidad, las dianas más avanzadas en este campo son las DNA metiltransferasas (DNMT), y las histona desacetilasas (HDAC), para las que ya hay fármacos aprobados por las agencias reguladoras y están utilizándose en clínica. Además, diversos inhibidores de la HDAC y de la DNMT se encuentran hoy en día en ensayos clínicos que incluyen terapias combinadas. Las restantes dianas, histona acetiltransferasas (HAT), histona metiltransferasas (HMT), e histona desmetilasas (HD) se encuentran en estadios menos avanzados que van desde los desarrollos preclínicos a las fases clínicas. Hay que destacar que estos inhibidores están siendo estudiados en enfermedades asociadas al envejecimiento, por

consiguiente, es posible que en los próximos años el uso de los fármacos epigenéticos se extienda a diversos

ámbitos de la biomedicina (33)

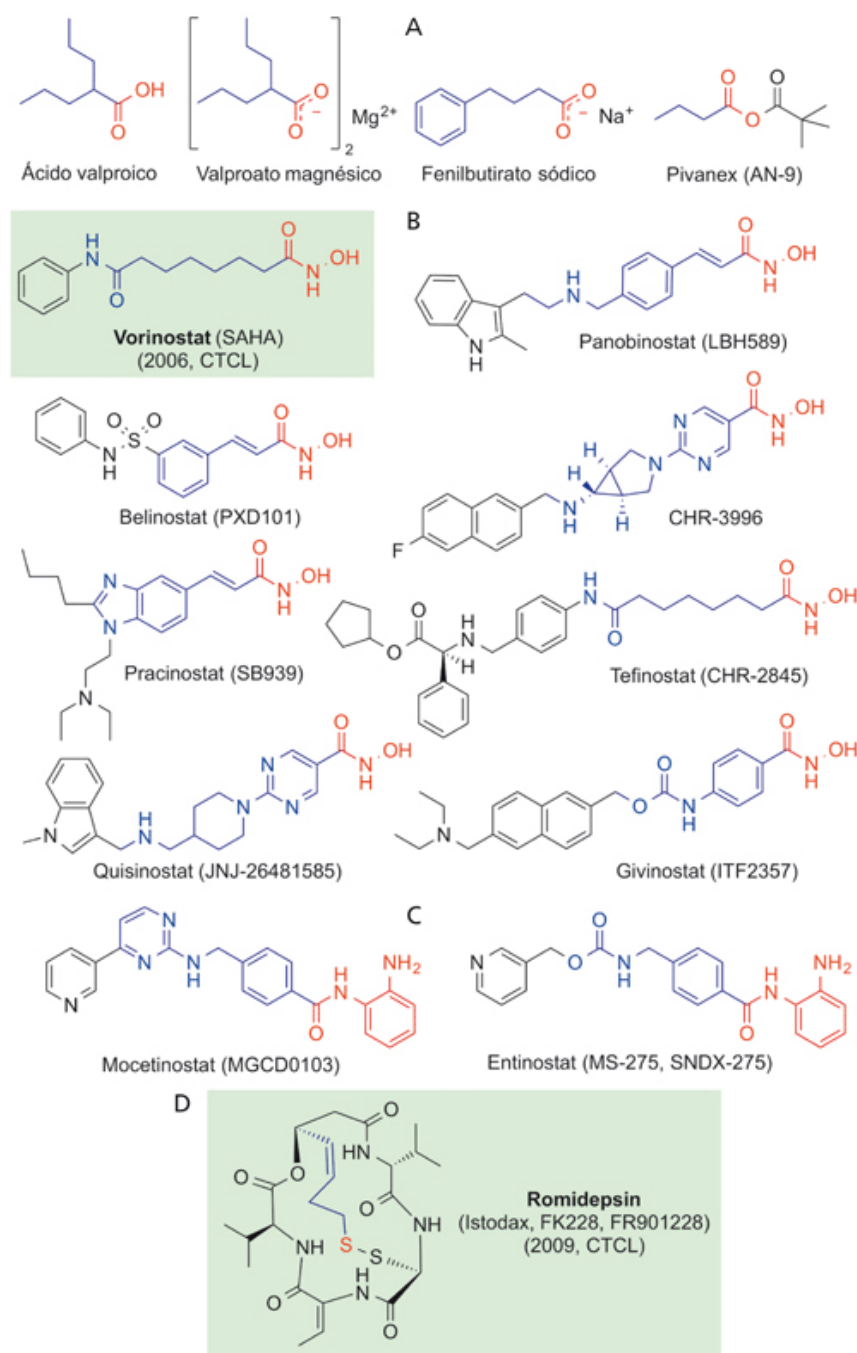


Figura 6. Inhibidores de HDAC I, II y IV que se encuentran en uso clínico (enmarcados en verde, con la fecha de aprobación y el uso) **o en ensayos clínicos**. Los grupos o ciclos de cierre, los grupos quelantes (A: carboxilo o carboxilato; B: hidroxamato o ácido hidroxámico; C: benzamida y D: tiol o sulfuro) y los brazos separadores entre ambos están marcados en negro, rojo y azul, respectivamente (Cossio FP) (33)

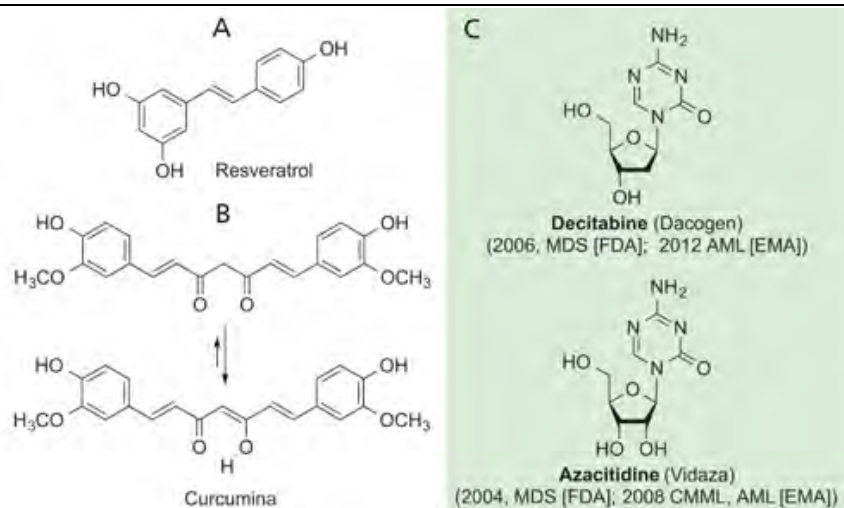


Figura 7. (A) Activadores de la SIRT1, (B) inhibidores de la HAT, y (C) inhibidores de la DNMT, que se encuentran en uso clínico (enmarcados en verde con la fecha de aprobación y el uso) o en ensayos clínicos (Cossio FP) (33).

Es un hecho reconocido que las vías biológicas implicadas en las enfermedades asociadas a la vejez, tienen algún componente de disregulación epigenética, sin embargo, todavía permanecen sin resolver muchas preguntas: los mecanismos precisos que gobiernan estos procesos, el efecto del envejecimiento y las interacciones entre el medio ambiente individual, el epigenoma y el genoma.

CUESTIONES PENDIENTES Y DIRECCIONES FUTURAS

Es aparente que la estructura de la cromatina cambia con la edad en organismos tan diversos como la levadura y los mamíferos. Sin embargo, con la excepción de SIR2 en levadura, la intensidad a la cual esto ejerce impacto en el proceso de envejecimiento no ha sido aún definido. Aunque nos encontramos al principio de las investigaciones sobre este campo, se puede proponer que algunas alteraciones epigenéticas asociadas a la edad en mamíferos, tal como la formación de SAHF, pueden influir sobre la longevidad al suprimir las enfermedades asociadas al envejecimiento. Se ha sugerido que un componente estocástico no regulado, derivado de los cambios en la estructura de la cromatina, puede conducir al gradual deterioro en la función de células y tejidos. Por analogía con las alteraciones genéticas (daño al DNA), el acumulo de los cambios epigenéticos puede considerarse como “daño a la cromatina”. En resumen, los efectos de la cromatina sobre el envejecimiento es probable que sean complejos y bidireccionales. Un prerrequisito para conocer la contribución de la epigenética al envejecimiento es comprender mejor los fenotipos senescentes específicos, tales como la osteoporosis, sarcopenia, el declinar de la función inmune, alopecia, cáncer y muchos otros. Entonces será posible analizar la contribución a cada fenotipo, de los candidatos epigenéticos determinantes, tales como la hipometilación global, la hipermetilación de los islotes CpG y la aparición de SAHF. Hasta que esto llegue, se puede ya empezar a aplicar el conocimiento adquirido. Por ejemplo, se pueden usar las alteraciones

epigenéticas, como un medio de detección temprana y estratificación del riesgo de enfermedades asociadas al envejecimiento. Existe ya un considerable interés en el desarrollo de métodos para la detección temprana del cáncer, basados en la hipermetilación de las islas CpG del promotor de genes supresores de tumores, en un número muy pequeño de células cancerosas encontradas en sangre u otros fluidos accesibles del organismo. Sin embargo, si la hipermetilación de CpG es un evento frecuente preneoplásico asociado a la edad, ha de ser posible ampliar esta tecnología al riesgo del cáncer, en base a la hipermetilación en tejidos preneoplásicos. De la misma manera, puede ser también posible usar los cambios epigenéticos de la edad en células cardíacas o inmunes para la valoración del riesgo o la detección temprana de enfermedad cardiovascular o pérdida de la función inmune. La meta última de la investigación sobre el envejecimiento es retrasar o aliviar las enfermedades o achaques de la edad, prolongando la vida de manera saludable. Para los aspectos epigenéticos del envejecimiento, esto puede ser un logro accesible, porque en principio las alteraciones epigenéticas son más reversibles que las alteraciones genéticas. No solo pueden utilizarse en la valoración del riesgo y en la detección temprana del cáncer, sino que pueden ser una estrategia quimiopreventiva del mismo cáncer. Es un hecho demostrado que la adición de un activador de la SIRT1, el *resveratrol*, a la dieta de ratones alimentados con dieta rica en grasas, prolonga la vida saludable de estos ratones, simulando la contribución bien establecida de la restricción calórica de la dieta a la longevidad. Aunque hay mucho por resolver, estos estudios demuestran que existe en la actualidad gran interés en profundizar en estos temas y en un potencial de estrategias quimiopreventivas para combatir los achaques el envejecimiento y el desarrollo del cáncer. La modificación epigenómica por estímulos ambientales afectan la transcripción y la estabilidad genómica con consecuencias importantes en la longevidad y establece a grandes rasgos diferencias epigenéticas entre

el soma mortal y la línea germinal inmortal.

CONCLUSIONES

La epigenética ejerce un papel importante en la determinación de las diferencias fenotípicas en la vejez. Una vez que se conocen los cambios en la metilación del DNA y las modificaciones de las histonas en el transcurso de la edad, es razonable esperar que estos descubrimientos tengan su repercusión en la clínica y se diseñen fármacos que eviten o aminoren los achaques propios de la edad, tales como la enfermedad mental, la diabetes y el desarrollo de algunos tipos de cáncer. El conocimiento de la naturaleza de las modificaciones epigenéticas en la vejez nos va a proporcionar nuevas estrategias para contrarrestar su impacto en las enfermedades asociadas a la edad. Sin embargo esto no será tan fácil porque algunos cambios epigenéticos que tienen lugar en la vejez no pueden explicarse solo por los factores ambientales. Existe también un componente estocástico en la variabilidad fenotípica. Se necesita establecer, por un lado, los mecanismos moleculares mediante los cuales exposiciones ambientales particulares inducen cambios epigenéticos específicos, y, por otro lado, en qué proporción la variabilidad fenotípica hereditaria asociada con la vejez puede ser ascrita a los factores epigenéticos. Nuestro conocimiento de la variación epigenética y la herencia está todavía en su infancia, pero posteriores estudios han de proporcionar sin duda información importante en un futuro cercano.

REFERENCIAS

1. Waddington CH. Canalisation of development and the inheritance of acquired characters. *Nature* 1942; 150: 563-4.
2. Goldberg AD, Allis AD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape. *Cell* 2007; 128: 635-8.
3. Slack JMW. Conrad Hal Waddington: the last renaissance biologist?, *Nature reviews genetics* 2002; 3: 889-95.
4. Noble D. Conrad Waddington and the origin of epigenetics. *Journal of Experimental Biology* 2015; 218: 816-8.
5. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell* 2013; 153: 1194-1217.
6. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007; 128: 693-705.
7. Sedivy JM, Banumathy G, Adams PD. Aging by epigenetics – a consequence of chromatin damage? *Exp Cell Res* 2008; 314: 1909-17.
8. Collado M, Blasco MA, Serrano M. Cellular senescence in cancer and aging. *Cell* 2007; 130: 223-33.
9. Blasco MA. Mice with bad ends: mouse models for the study of telomeres and telomerase in cancer and aging. *EMBO J* 2005; 24: 1095-103.
10. Esteller, M. CpG island hypermethylation and tumor suppressor genes: a booming present, a brighter future. *Oncogene* 2002; 21: 5427-40.
11. Lara E, Calvanese V, Fraga MF. Epigenetic Drift and Aging. In: *Epigenetics of Aging Tollefsbol TO* (ed.), Springer Sciences 2010; pp. 258-73.
12. Fraga MF, Esteller M. Epigenetics and aging: the targets and the marks. *Trends Genet* 2006; 38: 413-8.
13. Wilson RS. Synchronies in mental development: an epigenetic perspective. *Science* 1978; 202: 939-48.
14. Fraga MF, Ballester E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, Heine-Suñer D, Cigudosa JC, Urioste M, Benitez J, Boix-Chornet M, Sanchez-Aguilera A, Ling C, Carlsson E, Poulsen P, Vaag A, Stephan Z, Spector TD, Wu Y-Z, Plass C, Esteller M. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10604-9.
15. Petronis A. Epigenetics and twins: three variations on the theme. *Trends Genet* 2006; 22: 347-50.
16. Poulsen P, Esteller M, Vaag A, Fraga MF. The epigenetic basis of twin discordance in age related diseases. *Pediatr Res* 2007; 61: 38R- 42R.
17. Gartner K. A third component causing random variability beside environment and genotype. A reason for the limited success of a 30 year long effort to standardize laboratory animals? *Lab Anim* 1990; 24: 71.
18. Doll R. Susceptibility to carcinogenesis at different ages. *Gerontol Clin* 1962; 4: 211-21.
19. Campisi J. Cancer and ageing: rival demons? *Nature Rev Cancer* 2003; 3: 339-49.
20. Wilson VL, Jones PA. DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells. *Science* 1983; 220: 1055-7.
21. Agrelo R, Cheng WH, Setien F, Ropero S, Espada J, Fraga MF, Herranz M, Paz MF, Sanchez-Céspedes M, Artiga MJ, Guerrero D, Castells A, von Kobbe C, Bohr VA, Esteller M. Epigenetic inactivation of the premature aging Werner syndrome gene in human cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 8822-7.
22. Mostoslavsky R, Esteller M, Vaquero A. At the crossroad of lifespan, calorie restriction, chromatin and disease: meeting of sirtuins. *Cell Cycle* 2010; 9: 1907-12.
23. Pal S, Tyler JK. Epigenetics and aging. *Sci Adv* 2016; 2: 7.
24. Liz J, Esteller M. lncRNAs and microRNAs with a role in cancer development. ; 1859: 169-76.
25. Hammond SM. MicroRNAs as tumor suppressors. *Nature Genetics* 2007; 39: 582-4.
26. Grammatikakis I, Panda AC, Abdelmohsen K, Gorospe M. Long noncoding RNAs (lncRNAs). *Aging* 2014; 6: 992-1009.
27. Degirmenci U, Lei S. Role of lncRNAs in Cellular Aging. *Front Endocrinol* 2017; 7: 151.
28. Fraga MF, Agrelo R, Esteller M. Cross-talk between aging and cancer: the epigenetic language. ; 1100: 60-74.
29. Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of

- epigenetics events in cancer. *Nature Rev Genet* 2002; 3: 415-28.
30. Esteller M. Epigenetic gene silencing in cancer: the DNA hypermethyloma. *Human Mol Genet* 2007; 16: R50-R59.
 31. Bernardes de Jesus B, Blasco MA. Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends Genet* 2013; 29: 513-20.
 32. Feil R. Environmental and nutritional effects on the epigenetic regulation of genes. *Mutat Res* 2006; 600: 46-57.
 33. Cossio FP. Fármacos epigenéticos. *Revista Epigenética de la SEBBM* 2017; 191.

El sistema de regulación celular de envejecimiento

Gustavo Barja de Quiroga

Departamento de Fisiología Animal-II, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Complutense de Madrid

ABSTRACT: The mitochondrial rate of reactive oxygen species (ROS) production and the degree of fatty acid unsaturation of cellular membranes are low in long-lived animals. Dietary restriction, protein and methionine restriction, and rapamycin, the four known experimental manipulations which increase mammalian longevity, also decrease mitROSp at complex I and oxidative damage to mtDNA. This could increase longevity by decreasing mtDNA fragments accumulation inside nuclear DNA. Pre-nuclear signaling of longevity, the nuclear aging program, and the aging effectors are the three main constituents of the cellular aging regulation system (CARS). The three best known aging effectors of the genetic aging program of aerobic tissues are mitochondrial ROS production, membrane fatty acid unsaturation, and autophagy. This program reacts to cytoplasmic signaling proteins, influenced by nutrients, drugs and hormones, varying the activity of the mitROSp and autophagy aging effectors. An analogous program, although with additional gene clusters of aging involved and wider output activity, can determine longevity in different animal species.

RESUMEN: Los animales longevos tienen niveles bajos de producción mitocondrial de ROS y de insaturación de los ácidos grasos de las membranas celulares. La restricción de calorías, de proteínas, o de metionina, y la rapamicina, que son las cuatro manipulaciones experimentales conocidas que aumentan la longevidad de los mamíferos, también disminuyen la producción mitocondrial de ROS en el complejo I y el daño oxidativo al ADNmt. Esto parece contribuir a aumentar la longevidad porque disminuye la acumulación de fragmentos del ADNmt insertados dentro del ADN nuclear. La señalización pre-nuclear de la longevidad, el programa nuclear del envejecimiento, y los efectores de envejecimiento, son los tres constituyentes principales del sistema de regulación del envejecimiento celular (CARS). Los tres efectores del envejecimiento mejor conocidos de los tejidos aerobios son la producción mitocondrial de ROS, la insaturación de los ácidos grasos de las membranas, y la autofagia. El programa de envejecimiento nuclear reacciona a las proteínas citoplásmicas de señalización influenciadas a su vez por nutrientes, fármacos y hormonas, variando al menos dos efectores, la producción mitocondrial de ROS y la autofagia. Un programa análogo, aunque con clusters génicos adicionales implicados, y con mayor nivel de expresión génica, puede determinar la longevidad de las distintas especies animales.

Corresponding Author: gbarja@bio.ucm.es

An Real Acad Farm Vol. 83, N° 1 (2017), pp. 129-139

El envejecimiento causa 100.000 muertes al día y 40 millones al año en todo el mundo. Es responsable del 70 % de todas las muertes a nivel mundial y del 90 % en España y los demás países desarrollados. Todas las enfermedades degenerativas, como la mayoría de los casos de cáncer, enfermedades cardiovasculares, demencias seniles como al enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, la osteoporosis, la diabetes tipo 2, o las autoinmunes por definición tienen una raíz común: el proceso endógeno del envejecimiento. Cuando somos mayores, incluso si tenemos la suerte de sobrevivir a una de estas enfermedades terribles, casi siempre acaba viniendo otra que acabará con nosotros. La razón es que el cuerpo, incluso en personas mayores sanas, está envejecido y seriamente dañado de forma irreversible en multitud de sus células y componentes celulares. Mientras no eliminemos el envejecimiento, no se podrán evitar la inmensa mayoría de los cánceres y de las demás enfermedades degenerativas. Intentar curar las enfermedades degenerativas una a una conforme van apareciendo nunca acabará con ellas. En cambio, si derrotamos al envejecimiento, las eliminaremos a todas con una única manipulación.

La ralentización del envejecimiento volverá a poner en marcha la evolución hacia una mayor longevidad, que es

una de las claves del éxito de nuestra especie, junto con la inteligencia, la postura erguida o la sociabilidad. Nuestra longevidad se multiplicó por diez, desde los aproximadamente diez años que vivirían nuestros primeros ancestros primates, los pequeños Plesiadatiformes como el *Purgatorius* del tamaño de una ardilla, hasta los 120 años de longevidad máxima de los centenarios humanos más longevos. Este 1.000 % de aumento de la longevidad ha dado el resultado maravilloso del que todos podemos disfrutar, incluyendo por primera vez la autoconciencia de la naturaleza, la belleza, la bondad, la búsqueda de la verdad y tantas otras cosas de valor incalculable. Sin ese aumento evolutivo de longevidad de un orden de magnitud nada de eso hubiese aparecido o hubiese sido apreciado por ningún ser vivo. Para conseguir reanudar ese proceso de aumento de longevidad que nos libraré de todas las terribles enfermedades degenerativas y volverá a poner en marcha nuestro camino evolutivo hacia una complejidad, inteligencia y sociabilidad aún mayor, primero hay que comprender bien los mecanismos fundamentales del envejecimiento desde el nivel celular y subcelular hacia arriba por los distintos niveles de organización biológica. Dicho conocimiento ha aumentado de modo exponencial desde el umbral del nuevo siglo en el año 2.000. Una vez en

posesión de ese conocimiento científico básico, la enorme capacidad de las técnicas de la biología molecular, junto con la nutrigenómica y farmacogenómica modernas, nos permitirán por fin llevar a cabo el viejo sueño de la humanidad: disminuir, por primera vez en la historia, la velocidad del envejecimiento humano.

Cuando consigamos disminuir, de verdad, la velocidad del envejecimiento del ser humano de con una intensidad importante, podremos alcanzar por ejemplo los 120 años con una edad biológica equivalente a la que tiene hoy una persona de 30 años. Eso sería una extensión de la longevidad de "solamente" tres veces, en lugar de las diez veces que ya logramos desde nuestro antepasado de tipo Plesiadatiforme. Eso sí que sería vivir mucho pero con salud, fuerza y vitalidad, nada que ver con la situación de los pocos centenarios que hoy día se acercan a los 120 años de edad. La aproximación contraria aplicada el pasado siglo XX, proteger a la gente solamente de la muerte pero no del envejecimiento, ha dado lugar a un gran incremento de las personas que alcanzan la edad avanzada, de forma que llegan a mayores pero están biológicamente viejos y por lo tanto frágiles y con cada vez mayor probabilidad de sufrir tarde o temprano una enfermedad degenerativa mortal. Este incremento de la población mayor está generando una enorme carga a los sistemas de sanidad y seguridad social de nuestra sociedad, aumentando enormemente la proporción de individuos muchas veces crónicamente enfermos y en general social y económicamente dependientes. Nuestras sociedades desarrolladas pero envejecidas, con su carga socioeconómica y sanitaria cada vez más insostenible, sufren lo que se denomina "el problema del envejecimiento". Todo esto se podrá solucionar acercándonos cada vez más hacia el envejecimiento insignificante, la "negligible senescence". La biogerontología es la clave para solucionar este enorme problema y ayudar a impulsar a la humanidad a un futuro aún mas brillante en la senda evolutiva desde la simplicidad hacia la complejidad en la que está ya comprometida desde hace millones de años, desde el polvo inerte a las bacterias, a las células eucariotas modernas, la vida multicelular, el ser humano actual, y una sociedad futura sin envejecimiento y mejor que la actual.

EL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO

Es muy difícil definir el envejecimiento, por lo que existen varias definiciones de este proceso. Una de ellas es que consiste en el conjunto de cambios negativos que ocurren en el individuo adulto que dan lugar a un aumento de la probabilidad de sufrir enfermedades y la muerte. También lo caracterizan las llamadas "cuatro reglas del envejecimiento". La primera regla nos dice que el envejecimiento es **universal**. Esto significa que lo experimentan absolutamente todos los individuos humanos. Esto también es aplicable a la mayoría de las especies animales, sobretodo a las más cercanas a nosotros como los mamíferos. Cuando se trata de animales complejos como nosotros, todas las especies estudiadas muestran envejecimiento, aunque eso sí, a velocidades muy distintas.

La segunda regla nos dice que es **progresivo**. No nos mantenemos jóvenes hasta los 80 años y luego envejecemos de golpe. Por el contrario, las distintas manifestaciones del envejecimiento, como las disminuciones de las distintas funciones fisiológicas, van ocurriendo progresivamente a todas las edades desde el adulto joven hasta el viejo. Aunque dicha velocidad sea diferente en los distintos individuos y aún en los distintos órganos dentro de un mismo individuo. Pero la diferencia en la velocidad del proceso es muchísimo mayor entre especies que dentro de especies. Sólo en los mamíferos, la ballena más longeva envejece 200 veces más despacio que una musaraña, y el hombre lo hace 35 veces más lentamente que un ratón. En los animales en su conjunto la velocidad de envejecimiento entre especies puede variar hasta 200.000 veces o incluso millones de veces desde insectos que viven un día o incluso menos hasta el mejillón *Arctica islandica* que vive 512 años o la esponja *Scolymastra joubini* que parece poder alcanzar los 15.000 años.

La tercera regla nos dice que el envejecimiento es **irreversible**. Es un proceso que se produce, de modo natural, en una sola dirección, de joven a viejo, y nunca en sentido contrario. Por eso los gerontólogos piensan que su explicación fundamental ha de incluir cambios que se acumulan con la edad en nuestros órganos y tejidos sin posibilidad de ser reparados. Por último, el envejecimiento es un proceso de origen **endógeno**. A él se le puede sumar daño de origen externo que empeora nuestra salud. Pero aunque vivamos aislados en un ambiente óptimo seguiremos envejeciendo a la velocidad típica de nuestra especie. Porque el origen mismo del proceso procede del interior de nuestro cuerpo.

Además de estas cuatro reglas básicas, es importante señalar que el envejecimiento se manifiesta de forma más acusada en los órganos y tejidos llamados **post-mitóticos**. Éstos son los que tienen poca o nula capacidad de división celular. Cuando en un tejido las células se dividen continuamente, aunque algunas se dañan durante el envejecimiento, las no dañadas dar lugar a células sanas nuevas, y así la función del tejido puede mantenerse bastante bien con el tiempo. Además la división celular por sí misma disminuye el daño, ya que las alteraciones quedan diluidas en las células hijas debido al crecimiento del material celular tras la mitosis. En cambio el daño celular en los tejidos post-mitóticos da lugar a células alteradas permanentemente o a muerte celular. Esto es lo que ocurre en la mayoría de las neuronas, o en las células musculares esqueléticas o cardíacas. Estas células son en su inmensa mayoría postmitóticas, y los órganos que las contienen, cerebro, corazón y sistema muscular, son los más afectados durante el envejecimiento.

El envejecimiento afecta a los distintos órganos y sistemas. En el hombre produce cambios en la figura corporal, disminuye la estatura y redistribuye la grasa corporal desde zonas periféricas hasta zonas internas como las abdominales. Se produce un deterioro en la capacidad de regulación de la temperatura y de muchos otros parámetros fisiológicos, disminuye la frecuencia cardíaca,

especialmente la frecuencia máxima durante el ejercicio y los vasos sanguíneos se hacen menos elásticos. En el aparato respiratorio disminuye el número de alvéolos y de capilares, con un descenso de la elasticidad pulmonar y de la distensibilidad de la caja torácica, y la función pulmonar máxima disminuye. En el aparato digestivo se reduce la cantidad de saliva, disminuye la sensación gustativa, suele haber alteraciones en la dentición y descienden las funciones motora y secretora. El sistema nervioso se ve particularmente afectado debido a fenómenos de atrofia y muerte neuronal con alteraciones en los neurotransmisores y en los distintos circuitos neuronales. Disminuye el flujo sanguíneo cerebral y la velocidad de procesamiento en las funciones intelectuales superiores, disminuye la fijación de la memoria, y aumenta el tiempo de reacción. En la parte sensitiva del sistema nervioso se producen pérdidas importantes en los sentidos del oído, la vista, y el tacto.

Hay una pérdida muy importante de masa y densidad ósea, especialmente en las mujeres a partir de la menopausia. También hay una pérdida importante de masa muscular conocida como sarcopenia, y hay cambios negativos en las articulaciones con aumento de fibrosis en la membrana sinovial y pérdida de elasticidad del cartílago. También disminuyen la masa renal, la tasa de filtración glomerular y la función renal. Todos estos cambios disminuyen la capacidad de homeostasis, la capacidad de reaccionar de forma compensatoria frente al estrés y las agresiones externas. El anciano se hace frágil y vulnerable.

LONGEVIDAD MEDIA Y MÁXIMA

Cuando se habla de longevidad es necesario distinguir la

longevidad media (parecida a la esperanza de vida de una población) de la longevidad máxima. La primera corresponde al tiempo medio de vida de los individuos de una población dada, mientras que la segunda se refiere al tiempo de vida de los individuos más longevos de la misma.

La longevidad media depende en gran medida de las condiciones ambientales y por eso es mucho mayor en los países desarrollados que en los subdesarrollados. La longevidad media ha aumentado mucho a lo largo de los últimos cien años en los países desarrollados hasta situarse alrededor de los 82 años en las mujeres y un 10 % menos en los hombres, mientras que a principios del siglo veinte alcanzaba en muchos de esos países solamente unos 40-50 años. En este proceso han intervenido multitud de factores como los avances en la higiene, la aparición de fármacos efectivos como los antibióticos, el descenso de mortalidad infantil, o las mejoras marcadas en las técnicas y cuidados médicos y su grado de cobertura social. El aumento de la longevidad media da lugar a lo que se conoce en gerontología como rectangularización de las curvas de supervivencia (Figura 1). Conforme mejoran las condiciones de vida, las curvas de supervivencia se van volviendo más rectangulares porque cada vez es mayor el porcentaje de individuos que llegan a viejos, pero el problema es que están viejos. Todas las curvas siguen cortando el eje X (de abscisas) en el mismo punto, que corresponde a la longevidad máxima de la especie, y que supera sólo un poco los 100 años en la especie humana. Siempre ha habido centenarios, lo que ocurre es que cuando las condiciones de vida eran malas, había muchos menos.

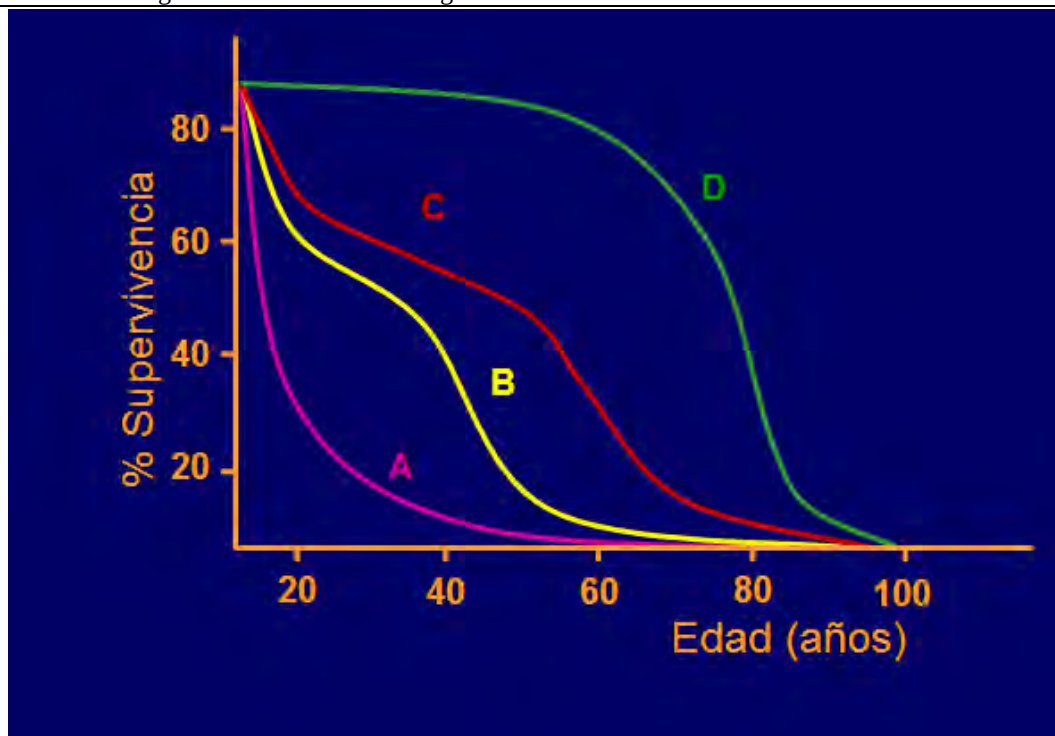


Figura 1. Las curvas de supervivencia de las poblaciones humanas se han ido rectangularizando en los países desarrollados desde la antigüedad (curva A) hasta la actualidad (curva D) conforme mejoraban las condiciones de vida, lo cual ha aumentado mucho la longevidad media. Sin embargo el punto donde caen todas las curvas en el eje x, la longevidad máxima, no se ha modificado. Esto se debe a que en este proceso ha aumentado la probabilidad de sobrevivir y llegar a viejo, pero no ha disminuido la velocidad del envejecimiento.

La rectangularización de la curva de supervivencia aumenta el porcentaje de individuos que llegan a viejos, así como el número de centenarios, pero no aumenta la longevidad máxima porque la velocidad del proceso biológico intrínseco del envejecimiento sigue siendo la misma. Por eso el aumento de longevidad media sin aumento de longevidad máxima, sin disminución de la velocidad del envejecimiento, ha envejecido la población, e irónicamente ha creado "el problema del envejecimiento". Ha permitido que el envejecimiento se manifieste de forma masiva. Un tratamiento futuro que sea capaz de retrasar el envejecimiento no sólo rectangularizará la curva de supervivencia, sino que la desplazará a la derecha en el tiempo, aumentando la longevidad máxima de la población. Esto sería muy beneficioso porque solamente esto nos permitirá vivir más años pero (de verdad) con buena calidad de vida. Por ejemplo alcanzando los 80 años de edad cronológica con la salud y el estado general de un hombre actual de 57 años de edad biológica si disminuimos en sólo un 40 % la velocidad del envejecimiento, algo que ya se ha conseguido en mamíferos como los ratones (ver más abajo). Eso solo se conseguirá si se consigue ralentizar la velocidad del envejecimiento humano y por lo tanto aumentar su longevidad máxima. La **longevidad máxima** es específica de cada especie y alcanza sólo unos días en las moscas, 3-4 años en ratas y ratones o 120 años en la especie humana. Esto se debe a que la longevidad máxima, a diferencia de la media, está fundamentalmente bajo control genético. Sin embargo, en experimentos con animales ya se ha conseguido aumentarla de forma apreciable mediante manipulaciones genéticas, o incluso ambientales que inciden en las vías celulares internas bajo control genético. Estos experimentos se han realizado con levaduras, gusanos o insectos, pero también en mamíferos como ratones de laboratorio, lo que abre la esperanza de que en un futuro no muy lejano se puedan aplicar al hombre.

TEORÍAS DEL ENVEJECIMIENTO

En el pasado se han propuesto un gran número de teorías para intentar explicar el fenómeno del envejecimiento. La mayoría de ellas se fijan en algún aspecto particular del deterioro a nivel orgánico, celular o molecular. Las teorías orgánicas incluyen a la **neuroendocrina** y la **inmunitaria**. La teoría neuroendocrina se centra en que los sistemas nervioso y endocrino son los principales encargados de controlar y regular a todo el organismo. Por lo tanto, su deterioro daría lugar a un mal funcionamiento de los demás órganos y sistemas. En cuanto al sistema inmunitario, es el que nos defiende de los ataques de agentes patógenos como virus y bacterias. Su deterioro, por lo tanto, podría ser también causa de daño en todos los demás sistemas. Sin embargo estas teorías no explican cual es la causa del envejecimiento de los propios sistemas neuroendocrino e inmunitario, dejando al final sin explicar qué causa el envejecimiento. Hoy en día se considera que las causas fundamentales del envejecimiento se sitúan a nivel celular o molecular, aunque es probable que existan también fenómenos de comunicación interorgánicos que ayuden a coordinar el envejecimiento del individuo en su

conjunto.

Una teoría celular que tuvo mucho éxito en los años 70 del siglo XX fue la del **límite de la duplicación celular** de Leonard Hayflick. Esta teoría se basaba en la observación de que los fibroblastos cultivados en el laboratorio podían duplicar sus poblaciones mediante división celular un número limitado de veces y dicho número era mayor cuanto más longeva era la especie animal de la que procedían las células. Esta teoría cayó en desuso cuando se pudo observar que dicho límite no era tan fijo como se creía al principio, sino que podía aumentar cuando se mejoraban las condiciones ambientales en las que se cultivaban las células. La teoría del límite de la duplicación celular ha resurgido en parte en los últimos años cuando se ha comprobado que los **telómeros** (los extremos de los cromosomas) pierden material genético cada vez que la célula se divide. Esto podría ser la base de la existencia de límites a la duplicación celular, cuando el ADN telomérico se agota. Sin embargo existen muchos puntos oscuros, como el hecho de que la longitud telomérica no correlaciona bien con la longevidad máxima del ratón y el hombre. En cualquier caso, este fenómeno no puede explicar por qué envejecen las células postmitóticas (que no se dividen) como muchas neuronas y células musculares y cardíacas. Sí podría, en cambio, dar cuenta de parte del envejecimiento en tejidos con gran actividad de división celular.

Las teorías más exitosas hoy en día son las teorías "**moleculares**" que son las más abundantes en número. La mayoría de ellas se centran en algún tipo de deterioro que ocurre en las macromoléculas celulares con la edad. Uno de los cambios mejor conocidos que ocurren en las células postmitóticas durante el envejecimiento es la acumulación de **lipofuscina**. Se trata de acumulaciones heterogéneas de proteínas y lípidos oxidados y entrecruzados, relacionados con unos orgánulos citoplásmicos con capacidad degradativa llamados lisosomas, que se van acumulando con la edad en el citoplasma de la célula y que se pueden observar al microscopio. Representan materiales que la célula no ha podido ni expulsar ni digerir, es decir, una especie de acumulación de "basura" celular. No hay acuerdo en si dicha acumulación puede llegar o no a disminuir las funciones celulares, pero en cualquier caso la lipofuscina es un excelente marcador de envejecimiento a nivel celular. En los últimos años ha cobrado importancia el fenómeno de la autofagia, que en relación con los lisosomas, permite la eliminación de macromoléculas e incluso de orgánulos celulares muy dañados como mitocondrias que no pueden repararse. Cuanto mayor autofagia, menor es la acumulación irreversible de basura celular (lipofuscina) que parece ser capaz de acabar dañando a la célula.

Otra teoría molecular se basa en la observación de que conforme las células envejecen se forman puentes cruzados intra- o intermoleculares en muchas macromoléculas, como por ejemplo en el colágeno, o entre proteínas y ADN en el núcleo celular. Estos **entrecruzamientos** aumentan la rigidez y dificultan la funcionalidad de las moléculas implicadas. Otra fuente de modificación de macromoléculas es el fenómeno de la **glicación o glicooxidación** no

enzimática. En este caso moléculas del tipo de los carbohidratos, que poseen grupos químicos activos, se unen de forma covalente a proteínas (o incluso al ADN) celulares modificándolas y, mediante reacciones químicas posteriores que incluyen fenómenos oxidativos, dan lugar a productos de glicosilación avanzada (AGE) con potencialidad para alterar las funciones de las moléculas implicadas. También se ha propuesto que el envejecimiento podría deberse a la acumulación de **mutaciones somáticas**, que son cambios en el ADN de las células no germinales, es decir, las que constituyen la mayoría de los órganos y sistemas. El atractivo principal de esta teoría es que puede explicar el carácter claramente **irreversible** del envejecimiento mediante la acumulación de cambios genéticos no reparables aunque, como muchas otras teorías, no es capaz de explicar qué podría causar la aparición de esas mutaciones a velocidades tan diferentes en las distintas especies animales.

Otra teoría es la de la **velocidad de vida** ("rate of living"). Según ella la velocidad del envejecimiento es mayor cuanto más grande es la tasa metabólica por gramo de cada especie animal. Por eso suelen vivir menos los animales pequeños que los grandes dentro de un mismo grupo como por ejemplo los ratones frente a los elefantes en el caso de los mamíferos. Aunque esto es cierto en muchas especies, también son muchas las excepciones, razón por la cual, al menos en su forma primitiva, esta teoría se considera descartada como explicación general. Una teoría que tuvo bastante difusión en su día pero que se considera errónea por falta de evidencias en su favor es la de los **errores catastróficos** en el proceso por el cual la información pasa desde el ADN a las proteínas. Por otra parte, durante la última década se ha descubierto que las mutaciones que disminuyen la actividad del sistema de señalización de la "**insulina/IGF-1-like**" son capaces de incrementar la longevidad en especies que cubren un amplio abanico de la escala evolutiva, desde las levaduras hasta los ratones pasando por la mosca *Drosophila* o el gusano nematodo *C. elegans*. Entre las teorías moleculares también está la de los **radicales libres** que discutimos más abajo en detalle.

Por último, se han propuesto también **teorías "evolutivas"**. Estas no pretenden explicar como las anteriores a qué se debe el envejecimiento, sino **por qué** apareció en la evolución. Incluyen las del **soma desechable**, la de la **pleiotropía antagonista**, o la de la **mortalidad extrínseca**, y la que hoy en día está ganando cada vez más adeptos a la vista de multitud de evidencias en su favor, la del **envejecimiento programado**. Parece cada vez más claro que la velocidad del envejecimiento está escrita en nuestro genoma, lo que explicaría la enorme diversidad y la gran variación cuantitativa de la longevidad entre especies e incluso en una misma especie cuando se somete a restricción calórica (ver mas abajo) o a mutaciones de un único gen como por ejemplo los de la señalización insulina/IGF-1-like que ya consiguen aumentar la longevidad hasta en un 40 % frente a

la de los individuos normales en mamíferos como los ratones. Esto es equivalente a aumentar la longevidad máxima humana desde los más de 115 años actuales hasta los 160 años. Los distintos ratones longevos por mutación de un sólo gen que suben la longevidad hasta un 40 % son tantos que se cuentan ya por muchas decenas.

EL ENVEJECIMIENTO POR RADICALES LIBRES DE ORIGEN MITOCONDRIAL

Esta teoría fue propuesta inicialmente por el estadounidense Denham Harman y tiene muchos apoyos científicos en la actualidad. Los radicales libres son sustancias nocivas derivadas del oxígeno que respiramos, que se producen en nuestras células, especialmente en una parte de las mismas encargada de producir la energía celular durante la combustión de los derivados de los alimentos: en las mitocondrias. Irónicamente el oxígeno, indispensable para la vida, parece ser también un responsable principal de que nos vayamos degradando poco a poco.

Los radicales libres atacan a las macromoléculas que constituyen las células, sean proteínas, lípidos o ADN (Figura 2). Estas lo soportan gracias a que poseen una multitud de sustancias antioxidantes. A la vista de esto, se ha intentado alargar la vida de muchas especies animales aumentando sus niveles de antioxidantes, suplementándolos en la dieta o manipulando los genes que controlan los antioxidantes celulares. Sin embargo, estas investigaciones no han dado resultado, especialmente en el caso de los mamíferos. Parece que la situación no es tan simple y se ha estado incidiendo en el lado equivocado.

Se ha observado que los animales pertenecientes a especies de vida larga (como la vaca, nosotros o muchas aves) producen menos radicales libres por unidad de tiempo que los de vida corta como las ratas de laboratorio (que envejecen en dos años), lo que puede explicar porqué tienen menor daño oxidativo en el ADN mitocondrial (ADNmt) y envejecen más despacio. La cercanía física entre el ADNmt y el generador mitocondrial de ROS, que incluso parecen estar en contacto físico, explica la poca capacidad de los antioxidantes para interceptar a los radicales antes de que dañen al ADNmt. Parece que la madre naturaleza ha organizado así las cosas para impedir que la ingesta de antioxidantes modifique un parámetro tan vital para una especie como es la velocidad de su envejecimiento, lo cual sería catastrófico para la especie o el grupo. De acuerdo con estos conceptos, se ha observado que cuanto más longeva es una especie, menor es el grado de daño oxidativo en su ADN mitocondrial de modo análogo a lo que ocurre con su producción mitocondrial de ROS (Figura 3). Además, la teoría de los radicales libres puede explicar muchos de los fenómenos básicos de otras teorías moleculares, ya que están implicados en la formación de lipofusina, dan lugar a entrecruzamientos moleculares, intervienen en la glicooxidación, pueden explicar la teoría de la "velocidad de vida", y dan lugar a mutaciones cuando impactan en el ADN.

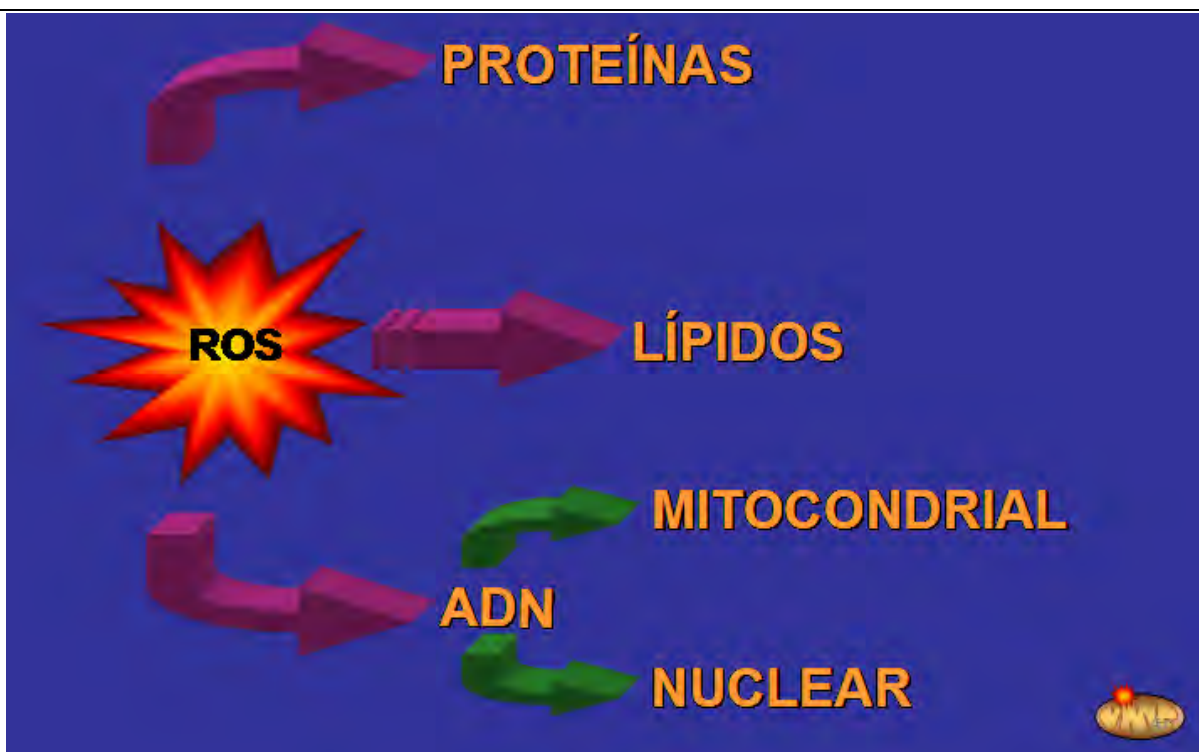


Figura 2. Los radicales libres (especies reactivas derivadas del oxígeno, ROS) son moléculas con un electrón desapareado en su orbital más externo. Debido a esto, reaccionan con rapidez con las macromoléculas celulares, sean proteínas, lípidos o ADN, modificándolas y dañándolas.

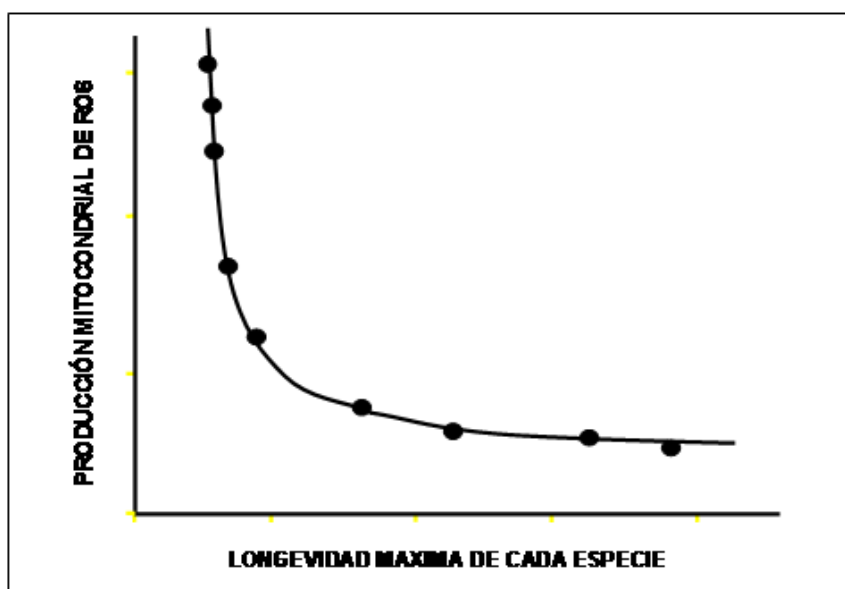


Figura 3. Cuanto mayor es la longevidad de una especie animal menor es su producción mitocondrial de ROS. Cada punto corresponde a una especie de mamífero con longevidad diferente. Se observó también una relación con una curva similar para el daño oxidativo en el ADNmt frente a longevidad de la especie.

El daño oxidativo crítico para el envejecimiento depende de la intensidad con la que las mitocondrias producen radicales libres. Aunque dichos radicales ataquen a las proteínas o lípidos mitocondriales o celulares, éstos se reparan tarde o temprano. Sin embargo, cuando el ADNmt es atacado por radicales libres, este se rompe dando lugar a

grandes deleciones y fragmentos de ADNmt. Antes se pensaba que las grandes deleciones eran importantes pero como existen miles de copias de los genes mitocondriales por célula hoy se sabe que en la mayoría de los tejidos postmitóticos de los individuos viejos las deleciones del ADNmt no alcanzan el tanto por ciento suficiente en

homoplasma para causar daño. Sin embargo, las roturas del ADNmt producen además de deleciones, fragmentos de ADNmt que no se habían estudiado antes. Quizás el problema es que se había centrado el enfoque en las deleciones en vez de lo que falta del ADNmt, los fragmentos. Recientemente se ha descubierto que los fragmentos del ADNmt salen de las mitocondrias, viajan por el citoplasma, entran en el núcleo y se insertan en el ADN nuclear durante el envejecimiento del individuo, análogamente a lo que ocurrió durante la evolución de las células eucariotas (Figura 4). Esto se ha visto tanto en la levadura como en cerebro o hígado de ratas y ratones. Estas inserciones pueden producir daño durante el envejecimiento de diversas formas. Los fragmentos de ADNmt pueden insertarse en genes estructurales o regiones reguladoras,

causando cáncer y envejecimiento. Se ha demostrado que la puerta de entrada al núcleo son las regiones pericentroméricas de los cromosomas. Por su cercanía física al aparato de división celular, la gran cantidad de fragmentos de ADNmt presentes en esas regiones podrían dar lugar a aneuploidías o reorganizaciones cromosómicas causando inestabilidad genética durante el envejecimiento, análogamente a lo que ya se sabía que ocurre en el cáncer. Estos distintos mecanismos se investigan en la actualidad y son importantes porque su carácter es un daño irreversible que no puede repararse, a diferencia del daño oxidativo *per se* a macromoléculas, y se acumula en forma de muerte o malfuncionamiento celular en los órganos con células postmitóticas.

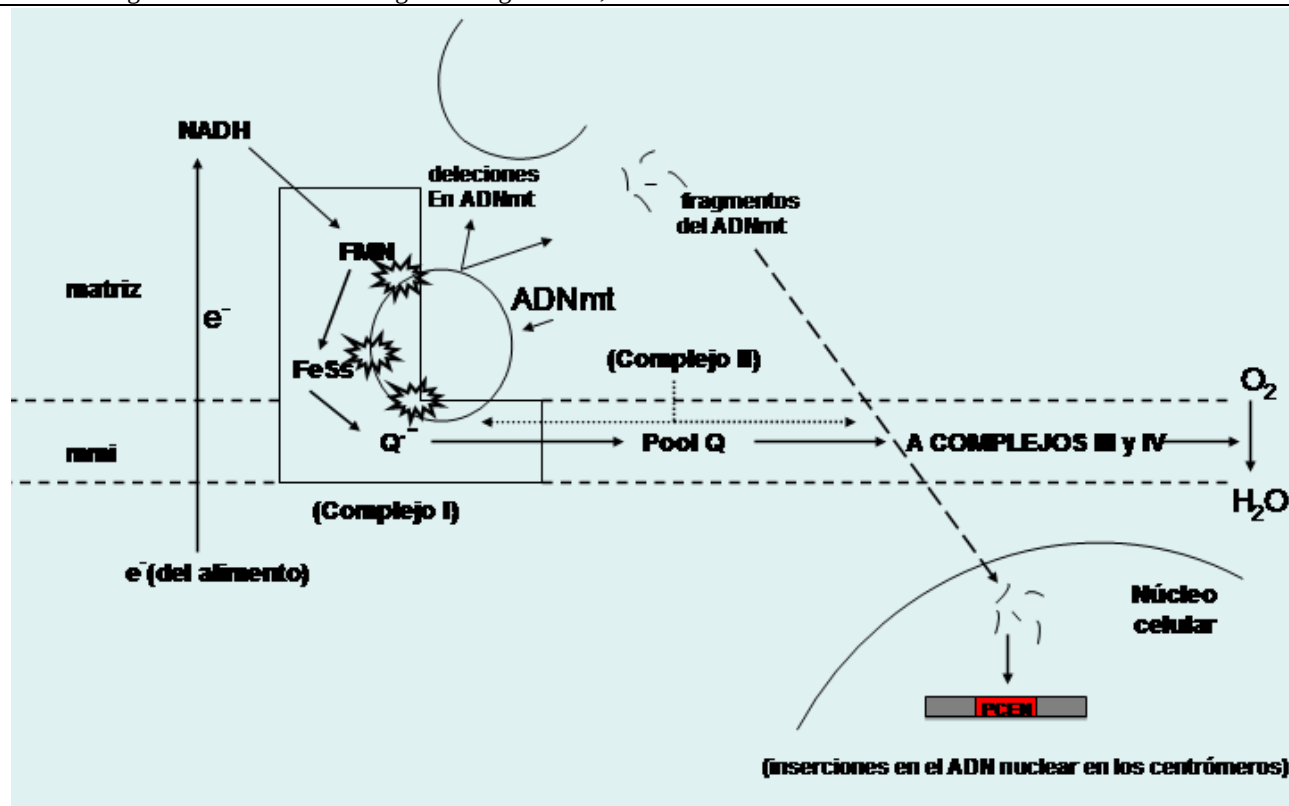


Figura 4. Los ROS producidos en el complejo I mitocondrial producen deleciones y fragmentos de ADNmt. Dichos fragmentos viajan al núcleo celular durante la vida del individuo y se insertan en el ADN nuclear entrando a través de los centrómeros de los cromosomas. Esto puede causar muerte y/o malfuncionamiento celular durante el envejecimiento. mmi = membrana mitocondrial interna; e⁻ = electrones; FMN = flavina; FeS = centros hierro-sulfurados; Q = ubiquinona; las estrellas representan los sitios de producción de ROS en el complejo I.

LAS RESTRICCIÓN CALÓRICA, O SÓLO DE PROTEÍNAS, ALARGA LA VIDA

A pesar de las dificultades para manipular el envejecimiento, existe una forma bien conocida de disminuir su velocidad: la restricción calórica o restricción de dieta (DR). Cuando un animal come poco, bastante menos de lo que le apetece, su cuerpo envejece más despacio. Esto se ha comprobado en multitud de especies animales cuando se les restringe el aporte calórico sin caer en la malnutrición ni en ningún tipo de deficiencia. El fenómeno se observa en todo tipo de especies, desde levaduras e invertebrados hasta mamíferos como las ratas y ratones de laboratorio y recientemente se ha comprobado en

experimentos de 20 años de duración en EEUU en los primates *Macacus rhesus*. Es la manipulación más robusta conocida que aumenta la longevidad animal. Es la DR pero sin malnutrición ni deficiencia en ningún elemento esencial o vitamina, lo que les alarga la vida. Biológicamente tiene sentido. ¿Para qué traer hijos al mundo si no hay forma de alimentarlos adecuadamente? En lugar de eso el animal retrasa su envejecimiento esperando a tiempos mejores para reproducirse. Es decir, que se trata de una respuesta programada en el genoma por ser adaptativa para la especie.

En los EEUU hace ya casi dos décadas que existen grupos de humanos voluntarios que realizan DR bajo supervisión de expertos. Los resultados son positivos y

similares a los obtenidos en roedores de laboratorio. Se sabe que el cuerpo humano se adapta a la DR de forma que el individuo no pasa hambre ni siquiera aunque combine DR con ejercicio. Por otra parte, se ha visto que restringiendo sólo la ingesta de proteínas sin necesidad de disminuir las calorías (PR), también aumenta la longevidad y lo mismo ocurre disminuyendo la ingesta de un único aminoácido, la metionina (MetR), mientras que no hay evidencias de que la restricción de carbohidratos o de grasas modifique la longevidad. El aumento de la longevidad conseguido con PR y MetR es aproximadamente la mitad del obtenido haciendo DR al 40 %, pero la ventaja es que no hay que disminuir la cantidad total de ingesta. Podemos comer cuanto queramos y basta con restringir sólo las proteínas para obtener aún un beneficio sustancial, un 20 % de aumento de longevidad. Esto es interesante también porque se sabe que la ingesta proteica de los humanos en las sociedades desarrolladas es varias veces superior a la cantidad recomendada por día, lo que indica que existe un amplio margen para su disminución. Además, si la MetR se hace al 40 % no se produce retraso del crecimiento en animales inmaduros, cosa que sí ocurre con la DR al 40 %. Las tres restricciones, DR, PR y MetR, han demostrado también disminuir las enfermedades degenerativas asociadas al envejecimiento como cánceres, cardiovasculares, demencias seniles, inmunitarias, etc. y mejorar los descensos en funcionalidad asociados a la edad e indicadores biológicos asociados a la morbilidad de muchas enfermedades, todo lo cual indica que retrasan el proceso endógeno del envejecimiento.

LA RAPAMICINA, EL PRIMER FÁRMACO QUE AUMENTA LA LONGEVIDAD EN MAMÍFEROS

Puesto que se había sostenido que muchas sustancias podrían tener efectos antienvjecimiento, para aclararlo los institutos de salud de los EEUU (NIH) lanzaron un programa llamado ITP (Intervention Testing Program) para ponerlas a prueba simultáneamente en tres laboratorios diferentes e independientes. Los resultados demostraron que muchas de esas sustancias no aumentaban la longevidad de los mamíferos, excepto una sola de ellas, la rapamicina. La rapamicina es el primer y de momento el único fármaco en la historia que ha demostrado aumentar la longevidad

máxima en ratones de laboratorio. Su efecto es aún un poco menor que el de la PR, pues aumenta la longevidad un 14 % cuando se usa a la dosis más óptima. Se sabe que su acción se debe a que la rapamicina inhibe la proteína de señalización celular del envejecimiento mTOR. La MetR, la PR y la DR tienen efectos mayores sobre la longevidad que la rapamicina porque inciden en otras vías de señalización celular además de en mTOR.

ESTRÉS OXIDATIVO MITOCONDRIAL, RESTRICCIONES DE DIETA Y RAPAMICINA

De modo análogo a lo que ocurre entre especies, se sabe que todos los tipos de restricciones de dieta que aumentan la longevidad (DR, PR y MetR) disminuyen la intensidad de producción mitocondrial de ROS y el daño oxidativo al ADN mitocondrial, cosa que no ocurre al restringir las grasas o los carbohidratos de la dieta. Es decir, que ocurre lo mismo con la longevidad y con la producción mitocondrial de ROS y el responsable de que este parámetro aumente es la proteína de la dieta, y más concretamente un solo aminoácido: la metionina. Es muy interesante que el único fármaco conocido que aumenta la longevidad de los mamíferos, la rapamicina, también disminuye la producción mitocondrial de ROS. De hecho consigue revertir por completo el aumento de dicha producción desde los ratones jóvenes a los de mediana edad y hace lo mismo con la acumulación de fragmentos de ADNmt en el ADN nuclear, disminuyendo así el daño que dichos fragmentos vimos antes que causaban en el genoma nuclear durante el envejecimiento.

En resumen, todas las manipulaciones conocidas que aumentan la longevidad de los mamíferos, la DR, la PR, la MetR y la rapamicina (Figura 5), disminuyen la producción mitocondrial de ROS. Y curiosamente, el sitio donde lo hacen no es cualquiera. En los cuatro casos dicha disminución ocurre en el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial, concretamente en su dominio hidrofílico dirigido hacia el interior de la mitocondria donde se sitúa el ADNmt. Es muy interesante que en las especies especialmente longevas en las que se ha estudiado, las aves, se ha encontrado lo mismo: su menor producción de ROS ocurre también exclusivamente en el complejo I.

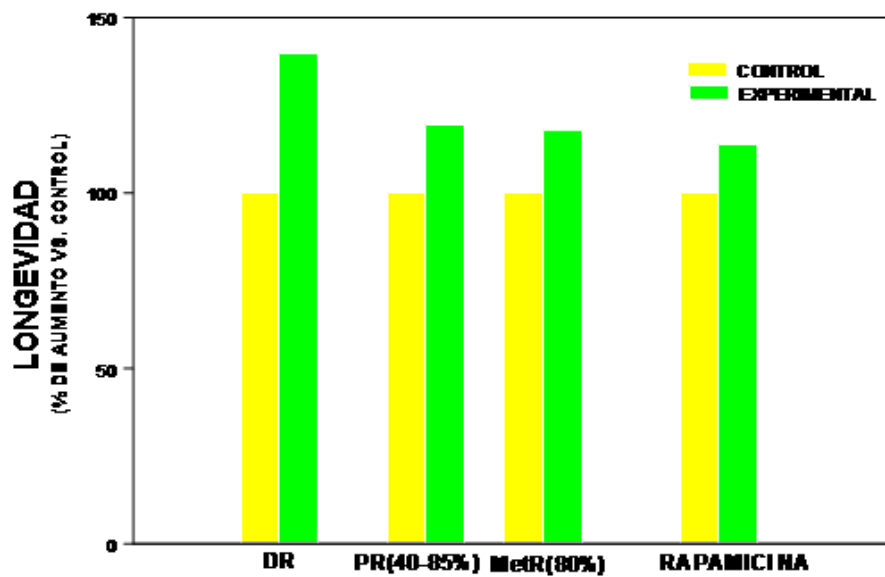


Figura 5. Los tres tipos de restricciones de dieta DR, PR, y MetR y la rapamicina aumentan la longevidad media y máxima en los mamíferos y las cuatro disminuyen la producción mitocondrial de ROS en el complejo I y el daño al ADNmt. La DR es la que tiene mayor efecto sobre la longevidad, seguida por la PR y MetR, y la que menos efecto tiene es la rapamicina. La DR tiene ese efecto implementándola al 40 % (el grado de restricción de la PR y la MetR utilizados se muestran en la figura).

EL SISTEMA DE REGULACIÓN CELULAR DEL ENVEJECIMIENTO (CARS)

Todos los datos anteriores encajan en un modelo general que controla el envejecimiento a nivel celular (CARS; Figura 6). Las restricciones de dieta y la rapamicina impactan sobre proteínas de señalización celular del envejecimiento pre-nucleares (parte izquierda de la Figura 6). Éstas a su vez envían señales al programa de envejecimiento (aging program, AP) mediante factores de transcripción y otros reguladores génicos, el cual responde variando la expresión de cientos de genes. La respuesta se concreta en la acción de los efectores (ejecutores) del envejecimiento, de los cuales hay ya tres conocidos que actúan tanto en los órganos con células mitóticas como postmitóticas: disminuye la producción de ROS en las mitocondrias, baja el DBI (grado de insaturación de los ácidos grasos de las membranas), y aumenta la autofagia y el resultado es el aumento de longevidad. De los tres, la producción mitocondrial de ROS actúa tanto en las DRs

como entre especies. El DBI actúa entre especies y dentro de especies sólo baja en la restricción más intensa (80 %MetR), pero no en la DR estándar (al 40 %). Y la autofagia sube en la DR y no se ha estudiado si actúa entre especies de diferente longevidad. Si se eliminan genes de autofagia baja la longevidad pero lo inverso, que es lo más importante, aún no se ha demostrado. Otros posibles factores como el acortamiento telomérico, tendrían importancia pero restringida a las células mitóticas. Los mutantes longevos se explican también con este modelo ya que los genes mutados corresponden a proteínas de las vías de señalización pre-nucleares que son en parte las mismas (como las de insulina/IGF-1-like) que las implicadas en la señalización pre-nuclear de las DRs. El que la DR tenga más efecto que la PR y la MetR y que la rapamicina se debe al número de vías de señalización afectadas, que es mayor en la DR que en la PR y MetR, y en estas dos es mayor que en la rapamicina la cual sólo afectaría al complejo proteico de señalización m-TOR.

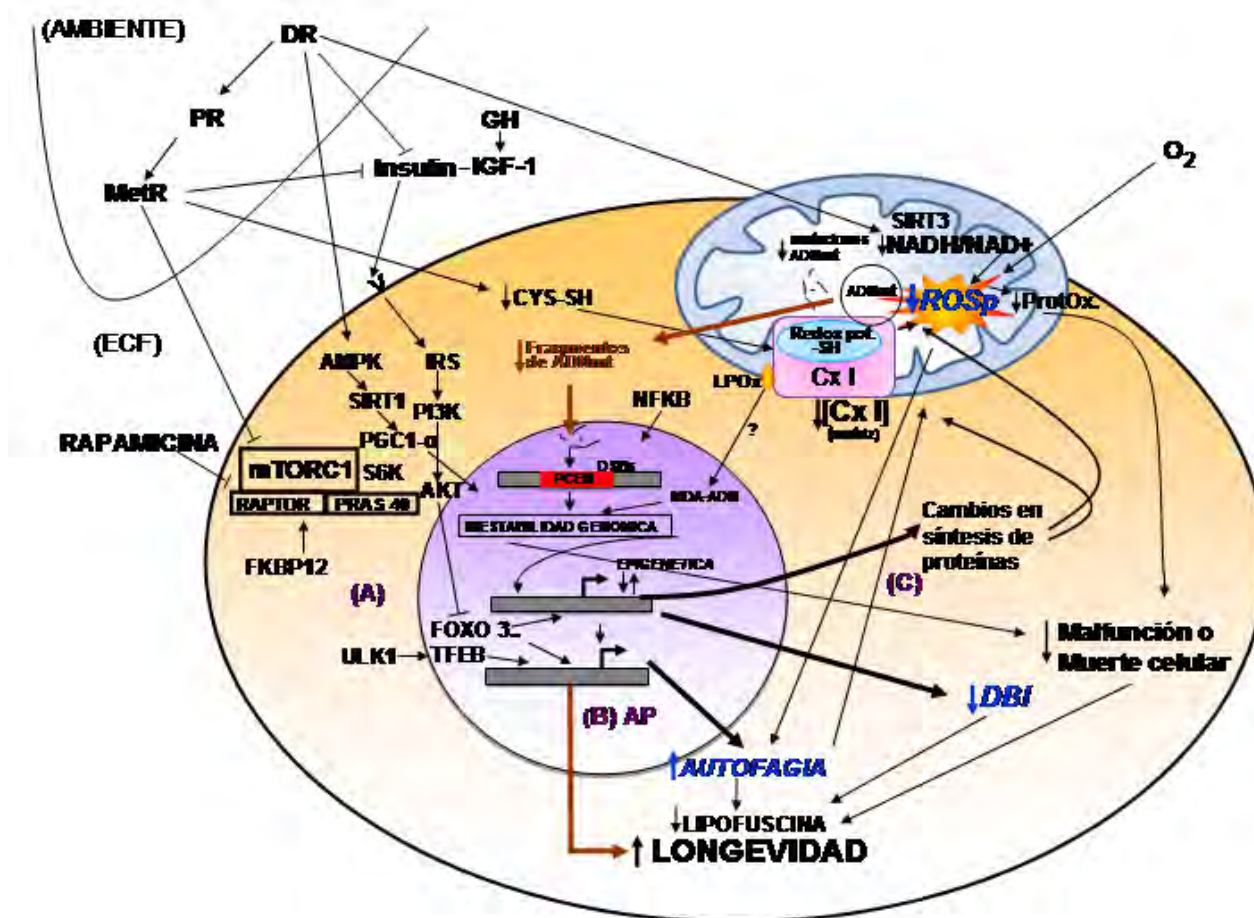


Figura 6. El Sistema de Regulación del Envejecimiento Celular (CARS) está compuesto básicamente de señales pre-nucleares de longevidad (A: izquierda), el programa de envejecimiento del núcleo (B: AP), y los efectores de envejecimiento (C: derecha). Se conocen al menos tres efectores de envejecimiento en células de tejidos tanto mitóticos como postmitóticos: la producción mitocondrial de ROS, el DBI (grado de insaturación de los ácidos grasos de las membranas celulares), y la autofagia.

El modelo coincide con el hecho bien comprobado de que la respuesta de aumento de longevidad, tanto en DR como en MetR, supone cambios en la expresión de un gran número de genes, que además no son todos los mismos en los dos tipos de restricción sino que muestran solapamientos parciales. Estas respuestas son además específicas tanto de tejido como de especie, lo que supone la existencia de un programa de envejecimiento celular que responde a las señales ambientales de variación de nutrientes.

Aunque el AP implique a centenares de genes diana finales, es lógico esperar que éstos estén controlados por un número mucho menor de genes reguladores (genes maestros) que, una vez localizados y alterados pueden generar aumentos de longevidad mucho mayores que los de las DRs (máximo de 1,4 veces). Esto es así porque el AP debe poseer clusters de genes tanto para variar longevidad entre especies como dentro de especies. Es decir, que no hay dos APs separados sino que se solapan en parte. Entre especies se espera que el grado de expresión de los genes del AP varíe más y/o implique a mayor número de genes diana. La clarificación de la organización del AP del núcleo es fundamental para poder aumentar la longevidad de los

mamíferos aun más allá del 40 % que ya se ha logrado.

Por otra parte, en la figura 6 se observa que aunque muchas de las respuestas de longevidad dependen del núcleo celular, en algunos casos hay vías directas que conectan la DR o la MetR con los efectores de envejecimiento, por ejemplo con la producción de ROS en la mitocondria. Además, el flujo de información también está sujeto a retroalimentación. Por ejemplo el AP controla el nivel de producción de ROS en la mitocondria. Cuando este sube, se producen más fragmentos de ADN mitocondrial que pasan al núcleo, insertándose en el ADN nuclear, causando probablemente daño o muerte celular y contribuyendo así a producir envejecimiento y cáncer. Otro factor de complicación adicional es la epigenética que, en el mismo núcleo, a través de sus cambios con la edad, parece contribuir a modificar la acción del AP sobre el envejecimiento.

El modelo CARS integra los diferentes mecanismos moleculares conocidos que se sabe que están implicados en la determinación de la longevidad. Es un modelo de trabajo abierto a modificaciones conforme se vayan descubriendo nuevos mecanismos. También ayuda a minimizar la confusión entre causas, programas, efectores, y cambios

finales irreversibles en el envejecimiento. A la vista del CARS queda claro que no tiene sentido decir que la longevidad se debe a vías como la señalización insulina/IGF-1-like y no a la mitocondria. Sería análogo a decir que en un arco reflejo medular sólo existe la vía sensitiva pero no el centro integrador de la médula ni el efector muscular. Ambos son parte del CARS, la señalización de la insulina como una vía pre-nuclear del AP y las mitocondrias como un efector del mismo. En cualquier caso, la existencia de un programa de envejecimiento es una buena noticia porque su disminución y eliminación en el futuro, cuando lo conozcamos suficientemente bien, nos permitirá abrir las puertas en dirección a la eterna juventud. Mientras que con las teorías clásicas anteriores que suponían que el envejecimiento se debía a infinitas causas estocásticas no había esperanza de poder dominarlo.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Barja G. Updating the mitochondrial free radical theory of aging: an integrated view, key aspects and confounding concepts. *Antiox Redox Signaling* 2013; 19: 1420-45.
- Colman JR, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, *et al.* Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science* 2009; 325: 201-4.
- Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, *et al.* Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 2009; 460: 392-5.
- Lapierre LR, Kumsta C, Sandri M, Ballabio A, Hansen M. Transcriptional and epigenetic regulation of autophagy in aging. *Autophagy* 2015; 11: 867-80.
- Martínez-Cisuelo V, Gómez J, García-Junceda I, Naudí A, Cabré R, Mota-Martorell N, *et al.* Rapamycin reverses age-related increases in mitochondrial ROS production at complex I, oxidative stress, accumulation of mtDNA fragments inside nuclear DNA, and lipofuscin level in liver of middle-aged mice. *Exper Gerontol* 2016; 83: 130-8.