



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**Facultad de Farmacia**

**Grado en Farmacia**

**RESTRICCIÓN CALÓRICA Y LONGEVIDAD**

**BELÉN CABRERA FERNÁNDEZ**



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**FACULTAD DE FARMACIA**

**GRADO EN FARMACIA**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**“RESTRICCIÓN CALÓRICA Y LONGEVIDAD”**

TFG de carácter experimental

**BELÉN CABRERA FERNÁNDEZ**

Departamento de Fisiología  
Tutor: Sandro Arguelles Castilla

**SEVILLA, septiembre 2021**

## **Resumen**

El envejecimiento se define como un proceso de acumulación de daños moleculares, celulares y orgánicos, que conduce a la pérdida de la homeostasis del organismo y a una mayor vulnerabilidad a la enfermedad y la muerte. En un intento por comprender los mecanismos que subyacen al envejecimiento, se descubrió que la restricción calórica era la intervención no genética más eficaz que puede prolongar la vida útil en multitud de organismos incluyendo, levaduras, nematodos, moscas y roedores. La restricción calórica (RC) se define como una intervención basada en la disminución de la ingesta de nutrientes que se consigue con una reducción de entre el 20% y el 40% de la ingesta calórica total, durante un tiempo determinado y sin causar desnutrición. Actualmente los gerontólogos han aceptado la restricción calórica como un enfoque para investigar las vías evolutivamente conservadas de la longevidad y para promover un envejecimiento saludable en los humanos, es decir, alargar los años de vida alejados de la enfermedad. Los efectos beneficiosos de la restricción calórica se producen a través de una serie de complejos mecanismos moleculares, que se solapan con los marcadores distintivos del envejecimiento. Se propone a la RC y a los miméticos de la RC como una intervención antienviejimiento prometedora y los hallazgos científicos de los últimos años se discutirán a lo largo de este trabajo.

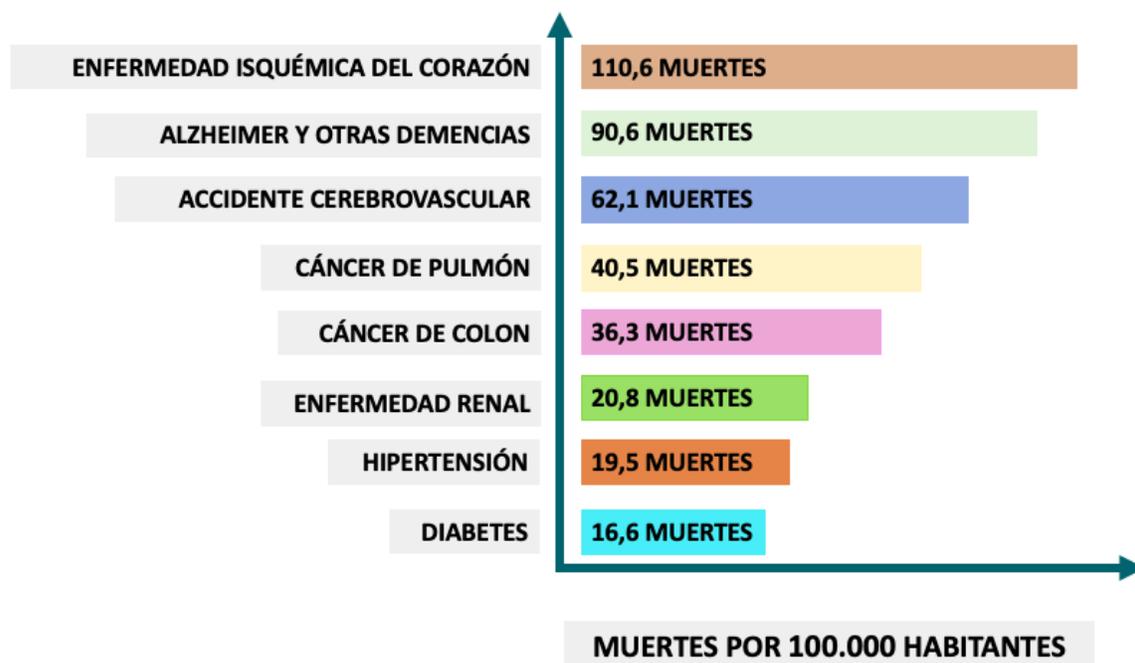
**Palabras clave:** restricción calórica, longevidad, envejecimiento.

## Índice

<b>Resumen</b> .....	
<b>1. Introducción</b> .....	5
<b>2. Objetivos</b> .....	7
<b>3. Metodología</b> .....	8
<b>4. Resultados y discusión</b> .....	8
<b>4.1 Principales características del envejecimiento</b> .....	8
4.1.1 Inestabilidad genómica.....	8
4.1.2 Desgaste telomérico.....	8
4.1.3 Alteraciones epigenéticas.....	8
4.1.4 Agotamiento de células madre.....	9
4.1.5 Senescencia celular.....	9
4.1.6 Pérdida de proteostasis.....	10
4.1.7 Disfunción mitocondrial.....	11
4.1.8 Alteración de la comunicación intercelular.....	11
4.1.9 Desregulación de los sistemas de detección de nutrientes.....	12
<b>4.2 Estrategias no farmacológicas para el control del envejecimiento</b> .....	13
4.2.1 Ejercicio físico.....	13
4.2.2 Restricción calórica.....	14
<b>4.3 Mecanismos a través de los cuales la restricción calórica aumenta la longevidad</b> .....	16
4.3.1 Restricción calórica y la estabilidad genómica.....	16
4.3.2 Restricción calórica y las alteraciones epigenéticas.....	18
4.3.3 Restricción calórica y la proteostasis.....	22
4.3.4 Restricción calórica y la función mitocondrial.....	24
4.3.5 Restricción calórica y la comunicación intercelular.....	25
4.3.6 Restricción calórica y las vías de regulación de nutrientes.....	26
4.3.7 Restricción calórica y el agotamiento de células madre.....	28
4.3.8 Restricción calórica y la senescencia celular.....	29
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	32
<b>6. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	33

## 1. INTRODUCCIÓN

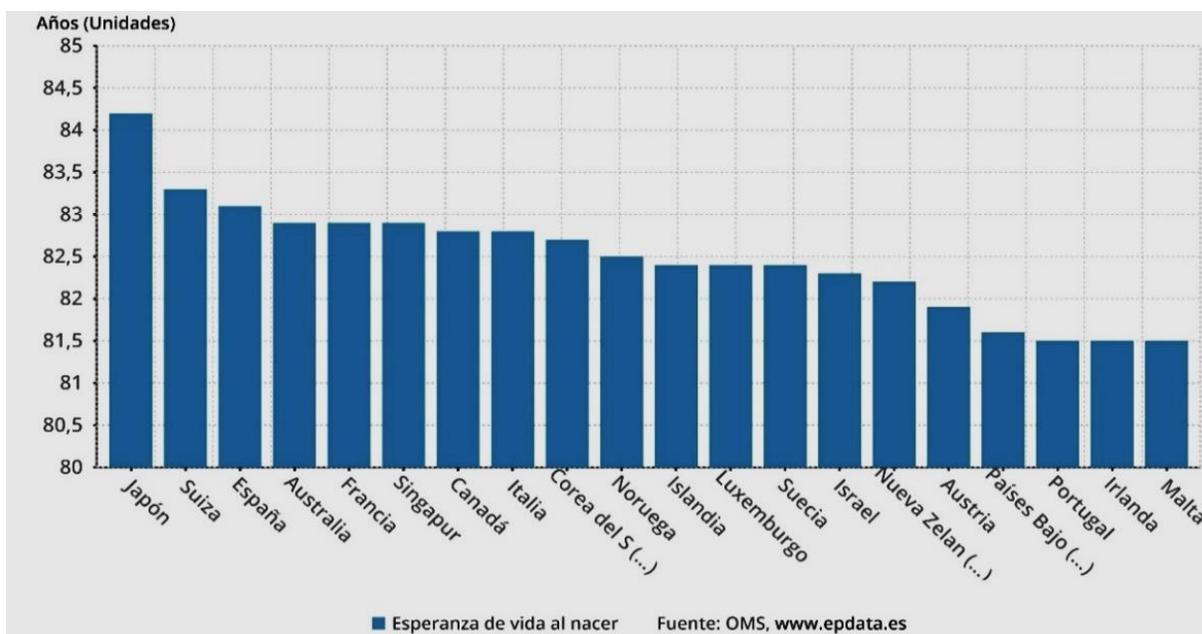
En la actualidad podemos definir el envejecimiento como un proceso universal, endógeno, progresivo e irreversible que se caracteriza por una acumulación de cambios a nivel biológico, fisiológico, morfológico y psicológico, que conducen al deterioro funcional del organismo con el paso del tiempo que provoque finalmente el deterioro de las funciones en el organismo (Anton & Leeuwenburgh, 2013) y dará lugar a un aumento en la vulnerabilidad a la muerte. Este deterioro, es el principal factor de riesgo de desarrollar numerosas patologías y enfermedades que nos acompañan en la actualidad, como la diabetes, el cáncer, los trastornos cardiovasculares, las afecciones musculoesqueléticas y las enfermedades neurodegenerativas. La pérdida de la capacidad, así como la morbilidad relacionada con la edad, afectan de manera negativa a la calidad de vida del individuo, y de la sociedad (Madeo et al., 2019) (Figura 1).



**Figura 1.** Gráfica basada en los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre el aumento en la prevalencia de enfermedades crónicas como causa de muerte en el mundo  
Fuente: (<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>).

Son muchas las teorías que a lo largo de los años han descrito el proceso del envejecimiento, pero sin duda la Teoría de los radicales libres posee muchos apoyos en la literatura científica. Aunque en condiciones fisiológicas las especies de oxígeno reactivas (ROS) contribuyen a la homeostasis, su aumento descontrolado desborda la capacidad de los sistemas antioxidantes y protectores para

protegernos, generando estrés oxidativo que dañará a las biomoléculas y estructuras celulares, alterando la homeostasis (G. Barja, 2005). Las investigaciones sobre la biología del envejecimiento en mamíferos han experimentado un enorme avance en los últimos años para comprender los mecanismos subyacentes que lo acompañan, y ha atraído gran atención por parte de los científicos, con el descubrimiento de que el ritmo del envejecimiento está controlado, por vías genéticas y procesos bioquímicos conservados a lo largo de la evolución (Kritsilis et al., 2018). El objetivo final no es sólo conocer y entender las reglas básicas de la naturaleza, también lo es poder mejorar la calidad de vida de las personas, tanto a corto como a largo plazo, promoviendo un envejecimiento humano saludable libre de discapacidad. Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la media de vida en los países más desarrollados es de 83,4 años para las mujeres y 78,1 años para los hombres. En España, según las proyecciones del Instituto Nacional de Estadística (INE), la esperanza de vida al nacer en el año 2033 alcanzaría los 82,9 años en los hombres y los 87,7 años en las mujeres, esto supone un aumento respecto a los valores actuales de 2,4 y 1,9 años respectivamente (Fuente <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?tpx=27290>). España es uno de los países del mundo con mejor esperanza de vida (Figura 2).



**Figura 2.** Representación gráfica de los veinte países con más esperanza de vida según los datos recogidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Fuente <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>).

En base a estos antecedentes, multitud de investigaciones han llevado a identificar una serie de marcadores distintivos del envejecimiento. La identificación de estos marcadores condujo a la búsqueda de estrategias no farmacológicas, como son la restricción calórica y el ejercicio físico. En este TFG se indicarán como la restricción calórica sin causar desnutrición contribuye a la longevidad mediante la mejora de los marcadores del envejecimiento en distintos organismos modelo.

## **2. OJETIVOS**

### **Objetivo general**

Dar conocer los principales efectos beneficiosos de la restricción calórica sobre la longevidad.

### **Objetivos específicos**

- Ilustrar las principales características del envejecimiento.
- Dar a conocer algunas estrategias farmacológicas y no farmacológicas para el control del envejecimiento.
- Mecanismos a través de los cuales la restricción calórica aumenta la longevidad y retrasa el envejecimiento.

## **3. METODOLOGÍA**

Con el objetivo de poder realizar este Trabajo final de grado, se realizó la revisión bibliográfica y la búsqueda minuciosa de documentos que proporcionaran la suficiente información sobre el tema a desarrollar. Para ello se consultaron bases de datos y editoriales de prestigio que contienen literatura científica contrastada de todo el mundo, destacando así entre ellas, PubMed, Elsevier, SciELO (Scientific Electronic Library Online). Para realizar una búsqueda más exhaustiva y comprimir los resultados se utilizaron términos como "longevity", "Caloric restriction", "lifespan" "aging", "mimetics", "fasting", "diet restriction" solos o combinando los términos.

La bibliografía se ha elaborado a través del programa informático Mendely. La búsqueda de artículos bibliográficos en inglés y castellano se ha filtrado en base a los últimos 12 años de investigación.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Principales características del envejecimiento

Los avances en el campo de la biología del envejecimiento en los últimos años ha permitido un mejor entendimiento de los procesos bioquímicos y fisiológicos, resultando en la identificación de “marcadores distintivos” del envejecimiento, los cuales acelerarán el proceso del envejecimiento si aumentan exponencialmente con la edad, y cuya reducción podría retrasarlo, provocando un aumento en la longevidad (Balasubramanian et al., 2017) (López-Otín et al., 2013).

#### 4.1.1 Inestabilidad genómica

La acumulación de daños en el ADN es un factor común que acompaña al envejecimiento. La integridad y la estabilidad genómica son amenazadas por factores exógenos y endógenos a lo largo de la vida, un ejemplo son los errores en la replicación del ADN o ROS. Este daño en el ADN se acumula en las células de los organismos envejecidos generando células disfuncionales que deben ser eliminadas mediante apoptosis o senescencia para garantizar la homeostasis celular. Gracias a los mecanismos de reparación del ADN evolutivamente conservados podemos minimizar estas lesiones, pero estos disminuyen progresivamente con la edad (López-Otín et al., 2013). Deben explorarse intervenciones que refuercen la estabilidad genómica y la reparación del ADN que tengan un impacto positivo en el envejecimiento fisiológico.

#### 4.1.2 Desgaste telomérico

Los telómeros son los extremos de un cromosoma y desempeñan un importante papel protegiendo el ADN genómico de la degradación. La longitud de los telómeros disminuye con la edad, contribuyendo a la senescencia celular. Existe una asociación entre la longitud de los telómeros, inflamación crónica y el estrés oxidativo (Arsenis et al., 2017). La evidencia científica muestra que reactivando genéticamente la telomerasa, se puede revertir el envejecimiento prematuro de ratones deficientes en esta (Vera et al., 2013).

#### 4.1.3 Alteraciones epigenéticas

La epigenética hace referencia a modificaciones en el ADN que pueden activar o desactivar la expresión de ciertos genes. El envejecimiento va acompañado de cambios epigenéticos entre los

que se engloba la remodelación de la cromatina, la metilación del ADN, la acetilación, desacetilación o metilación de las histonas (López-Otín et al., 2013). El silenciamiento o la expresión de muchos genes se asocian con las modificaciones de las histonas. Los miembros de la familia de las sirtuinas, que son desacetilasas de proteínas dependientes de la nicotinamida adenina (NAD), han demostrado recientemente que en los mamíferos median en muchos efectos de la restricción calórica sobre el metabolismo y la longevidad. Por ejemplo, las dianas transcripcionales de SIRT1, como son p53 y FOXO provocan un equilibrio en los mecanismos de reparación frente a la apoptosis durante la respuesta al daño (Guarente, 2011). Además, SIRT6 promueve la longevidad al regular la estabilidad genómica, la señalización de NF-κB y la homeostasis de la glucosa mediante la desacetilación de histonas H3K9 (Zhong et al., 2010). También se ha informado de que la sobreexpresión de SIRT3 mejora la capacidad de regeneración en las células madre hematopoyéticas envejecidas.

#### **4.1.4 Agotamiento de células madre**

El agotamiento de las células madre es uno de los responsables últimos del envejecimiento de los tejidos (López-Otín et al., 2013). Estudios recientes muestran que el aumento en la señalización del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF2) en el nicho de células madre musculares envejecidas conduce a una disminución de la capacidad de estas para regenerarse, mientras que la supresión de esta vía de señalización rescata estos defectos (Chakkalakal et al., 2012). En esta dirección, se ha informado que la RC aumenta las funciones de las células madre intestinales y musculares, y se están explorando intervenciones farmacológicas como la rapamicina para mejorar la función de las células madre (Cerletti et al., 2012).

#### **4.1.5 Senescencia celular**

La senescencia está causada por el acortamiento de los telómeros, la activación aberrante de oncogenes, el deterioro de la autofagia, y otros factores asociados al estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial. Es posible que la acumulación de células senescentes en el envejecimiento refleje un desequilibrio entre la tasa de generación y eliminación, como consecuencia de un sistema inmune debilitado (Kritsilis et al., 2018). Debido a este aumento, se ha asumido que la senescencia contribuye al envejecimiento, pero la evidencia muestra que el objetivo principal de ésta, es evitar la propagación de las células dañadas, además del papel beneficioso que ejerce sobre la respuesta antitumoral. Esto nos lleva a afirmar que la senescencia celular es una respuesta homeostática,

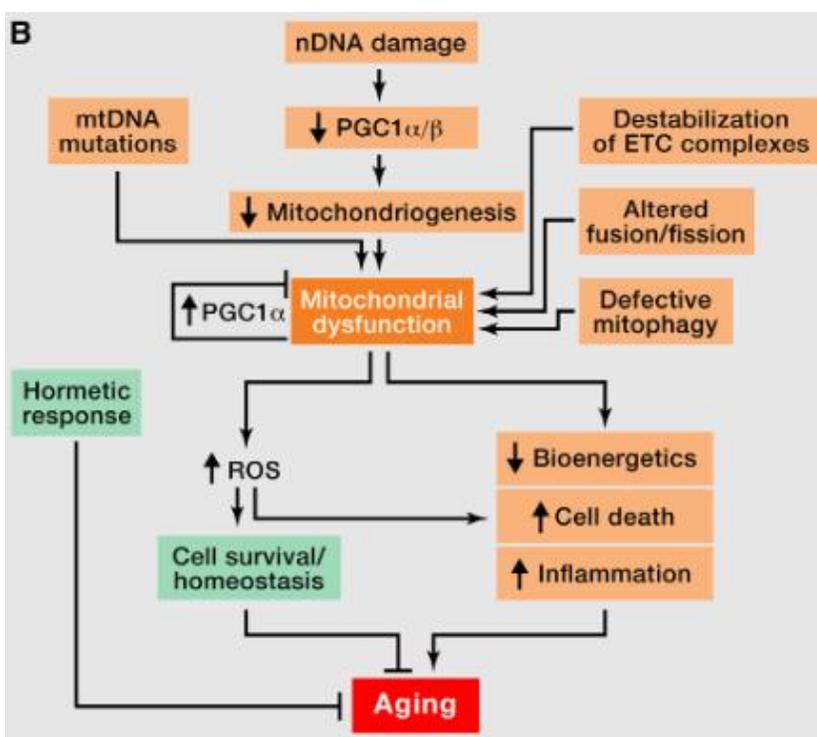
aunque puede ser perjudicial y acelerar el envejecimiento, cuando la capacidad de regeneración de los tejidos se agota (López-Otín et al., 2013). Una potenciación moderada de las vías supresoras de tumores pueden aumentar la longevidad, del mismo modo que la eliminación de células senescentes en ratones progeroides retrasó las patologías asociadas a la edad (Baker et al., 2011).

#### 4.1.6 Pérdida de proteostasis

Las proteínas extracelulares, intracelulares y de membrana acumulan diversos daños a lo largo de la vida (oxidación, glicación, etc.). De hecho, la agregación de proteínas suele producirse en enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson, la enfermedad de Huntington y en otros trastornos asociados al envejecimiento (Dutta et al., 2012; Hansen et al., 2018). La proteostasis implica una serie de mecanismos para que la síntesis, el plegamiento, la estabilización y el recambio de proteínas sean óptimos (López-Otín & Kroemer, 2021). También implica mecanismos para la degradación de las proteínas. Los dos principales sistemas proteolíticos que mantienen el control de calidad de las proteínas son; el sistema ubiquitina-proteasoma y el sistema autofágico-lisosomal. Las deficiencias en cualquiera de ambos colapsan la “homeostasis de las proteínas” y aceleran la aparición de enfermedades, mientras que intervenciones farmacológicas o genéticas que potencian la proteostasis, mejoran los fenotipos relacionados con la edad en mamíferos (Madeo et al., 2019). La *autofagia* es un proceso catabólico evolutivamente conservado donde los componentes celulares y organelos disfuncionales pueden ser secuestrados en vesículas de doble membrana, los autofagosomas, que posteriormente se fusionan con los lisosomas para llevar el contenido al lumen del orgánulo, donde se degrada, y las macromoléculas resultantes se reciclan (López-Otín & Kroemer, 2021). Entre los reguladores clave destacan las principales vías de detección de nutrientes, mTOR, la quinasa activada que inhibe la autofagia y la AMP (AMPK) que lo induce (Levine & Kroemer, 2019). Los estudios revelan una disminución tanto en la formación como en la posterior eliminación de autofagosomas relacionado con la edad, que puede ser consecuencia de un declive en la actividad proteolítica. La disminución del recambio de los componentes celulares y la reducción de la degradación proteica podría, por tanto, prolongar su tiempo de permanencia en la célula provocando alteraciones postraduccionales y contribuir al proceso del envejecimiento. Además, los efectos del estrés oxidativo (asociado a la edad) sobre la vía de señalización del receptor de insulina (IRS) parecen ser claves en la disminución de la autofagia en los organismos viejos (Levine & Kroemer, 2019).

#### 4.1.7 Disfunción mitocondrial

Las mitocondrias cumplen un papel clave en la enfermedad. Conforme avanza la edad cronológica, el daño celular y el estrés aumentan, y en paralelo lo hacen los niveles de ROS. Las ROS son una señal de supervivencia inducida por el estrés, similar a lo que ocurre con el AMP o el NAD<sup>+</sup>. Por encima de un determinado umbral, los niveles de ROS traicionan el propósito inicial de mantener la homeostasis y terminan agravando, en vez de aliviar, el daño asociado al envejecimiento (G. Barja, 2005) (Figura 3). Con el envejecimiento disminuye la eficiencia energética mitocondrial. SIRT1 participa en la biogénesis mitocondrial en el que interviene el coactivador transcripcional PGC-1 $\alpha$ , así como en la eliminación de las mitocondrias dañadas a través de la autofagia (Rubinsztein et al., 2011). La combinación de una menor renovación de las mitocondrias (por una menor biogénesis mitocondrial) y una acumulación de daño contribuyen fehacientemente al proceso del envejecimiento.



**Figura 3.** La función mitocondrial se ve alterada por múltiples mecanismos que contribuyen al envejecimiento. Imagen editada de (López-Otín et al., 2013).

#### 4.1.8 Alteración de la comunicación intercelular

El envejecimiento conlleva cambios en la comunicación intercelular y se produce un desequilibrio en la señalización neurohormonal. La **inflamación** es un factor clave de esta alteración intercelular

y aumenta considerablemente con la edad (López-Otín et al., 2013). La longevidad resulta inversamente proporcional a los niveles de inflamación. Son múltiples las causas que pueden desencadenar este estado, por ejemplo, la acumulación de daños tisulares proinflamatorios, un sistema inmunitario debilitado, una autofagia insuficiente o un aumento en la activación del factor nuclear de transcripción NF-κB. Estas alteraciones conducen a una mayor activación del inflamosoma NLRP3 y otras vías proinflamatorias, y esto conduce a un aumento en la producción de citoquinas como la IL-6, IL-1β, o el factor de necrosis tumoral TNF-α (Rea et al., 2018). Niveles crónicos moderados de alguno de estos marcadores son el anticipo del síndrome metabólico, arterosclerosis, diabetes, cáncer, y/o trastornos neurodegenerativos. De acuerdo con estas investigaciones, se sabe que una disminución en los niveles de SIRT1 se relaciona con el desarrollo de enfermedades inflamatorias, y la activación farmacológica de SIRT1 en ratones previene las respuestas inflamatorias (Gillum et al., 2011).

#### **4.1.9 Desregulación de los sistemas de detección de nutrientes**

Vía de señalización de insulina y el IGF-1 (IIS): Las vías tróficas y bioenergéticas tienen un enorme impacto sobre la longevidad. En los mamíferos, el eje somatotrófico engloba a la hormona del crecimiento (GH) y al factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), el brazo ejecutor de la GH. La IGF-1 es una hormona que provoca la misma vía de señalización que la insulina, informando a las células de la presencia de glucosa en sangre. Por ello la vía IGF-1 y la insulina se conocen como “Vía de señalización de insulina y el IGF-1” (IIS). Se conoce como la vía de control del envejecimiento mejor conservada, y entre sus dianas se encuentran los factores de transcripción FOXO y mTOR (Mammalian Target of Rapamycin), también implicados en el envejecimiento. La atenuación en la señalización de los niveles de la vía IIS prolonga la vida en gusanos, moscas y roedores (Fontana et al., 2010).

mTOR, AMPK y Sirtuinas: Otras vías de detección de nutrientes están involucradas en el envejecimiento; mTOR detecta altas concentraciones de insulina y aminoácidos; AMPK detecta bajos niveles de energía, al disminuir la concentración de ATP celular y aumentar la concentración de AMP; y las Sirtuinas detectan niveles de baja energía debido a altos niveles de NAD<sup>+</sup> (López-Otín et al., 2013). mTOR regula los aspectos del metabolismo anabólico. Su actividad aumenta durante el envejecimiento en neuronas de los ratones, y contribuye a la obesidad relacionada con la edad (Kaeberlein et al., 2013). Gracias a los estudios que implican a la vía IIS y a mTOR, nos muestran que una intensa actividad trófica y anabólica de ambos son importantes aceleradores del

envejecimiento. Los otros dos sensores de nutrientes, AMPK y sirtuinas, involucran procesos contrapuestos, responden ante la escasez de nutrientes y activan procesos catabólicos. La vía AMPK es esencial tanto para nuestra supervivencia como para prevenir enfermedades y su activación tras la administración de metformina ha demostrado prolongar la vida de gusanos y ratones (Campbell et al., 2017; Kulkarni et al., 2020). En resumen, la literatura ofrece pruebas de que la señalización anabólica acelera el envejecimiento y la disminución de la señalización de nutrientes prolonga la longevidad, y existen herramientas como la RC, el ayuno, el ejercicio físico, y fármacos como la rapamicina o la metformina que regulan estos procesos, favoreciendo un envejecimiento saludable (Fontana et al., 2010; Speakman & Mitchell, 2011).

## **4.2 Estrategias no farmacológicas**

Las principales estrategias no farmacológicas incluyen el ejercicio físico y la restricción calórica.

En este trabajo me centraré únicamente en los aspectos más importantes de la restricción calórica

### **4.2.1 Ejercicio físico**

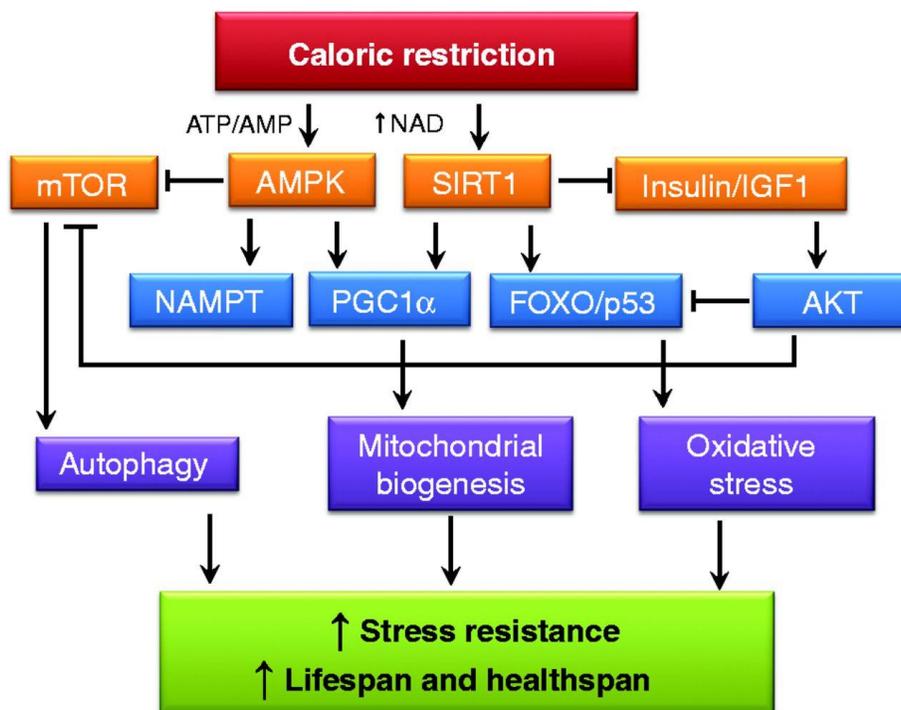
El ejercicio físico puede modular el proceso fisiológico del envejecimiento. Por ejemplo, el ejercicio ejerce un papel protector sobre la longitud de los telómeros y puede ser especialmente beneficioso para aquellas personas que padecen, o viven con el riesgo de sufrir patologías crónicas con altos niveles de estrés oxidativo e inflamación (Semeraro et al., 2020). Por último, mencionar que el estrés energético que desencadena el entrenamiento, actúa para iniciar la autofagia en el músculo esquelético a través de las mismas vías que la restricción calórica. Al aumentar los niveles de AMP:ATP durante el ejercicio, la activación de la AMPK inicia la formación de autofagosomas a través de ULK1. En un estudio de 2015 se comprobó que tras 60 minutos de ejercicio físico aumenta la señalización autofágica a través de ULK1 en el músculo esquelético humano, contribuyendo a la proteostasis de este (Møller et al., 2015). Por tanto, el ejercicio podría modular algunas patologías en las que se conoce la implicación de la autofagia como son la diabetes tipo 2, la neurodegeneración, la cardiomiopatía y la inflamación crónica (Escobar et al., 2019).

#### 4.2.2 Restricción Calórica

Una de las estrategias no farmacológicas más valiosas en la investigación sobre el envejecimiento es la restricción calórica (RC). La RC se define como una intervención dietética con una disminución mantenida de la ingesta energética diaria sin causar desnutrición. Puede lograrse reduciendo la ingesta calórica total entre un 20-40% con respecto a las condiciones ad libitum, manteniendo un aporte adecuado de vitaminas y minerales. Hace casi un siglo que comenzaron los estudios sobre el gran impacto positivo de la RC en la duración de la vida y en la protección de la salud en multitud de organismos que incluyen levaduras, nematodos, gusanos, moscas de la fruta, roedores y primates, sugiriendo que existen mecanismos comunes evolutivamente conservados que conectan la ingesta de alimentos con la longevidad (Balasubramanian et al., 2017; Weindruch, 1996).

Dos de los estudios más importantes realizados en primates no humanos (*monos Rhesus*), uno en el Instituto Nacional sobre el envejecimiento (NIA) y otro en la Universidad de Wisconsin, han demostrado el papel protector de la RC contra el desarrollo de la resistencia a la insulina, la diabetes, la mejora de factores de riesgo de arterosclerosis, la reducción de la inflamación crónica, del daño oxidativo y de los niveles de IGF-1, el retraso de la senescencia del sistema inmune, etc. Por tanto, se debería determinar en los próximos años si la RC aumenta la longevidad en los primates, pudiendo extrapolar estos hallazgos a los seres humanos (Holloszy & Fontana, 2007). La RC actúa sobre múltiples vías de señalización en los organismos modelo estudiados, desde la levadura hasta los roedores, que regulan e inducen profundos cambios en el crecimiento, el metabolismo, la respuesta al estrés oxidativo, la reparación de daños, la inflamación, la autofagia, y la proteostasis, para modular el proceso de envejecimiento, además de producir efectos preventivos sobre las enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares, los trastornos metabólicos o el cáncer (Ki Wung Chung & Chung, 2019; Xu & Wang, 2019).

Las cuatro vías evolutivamente conservadas y mejor estudiadas, implicadas en los efectos beneficiosos de la RC sobre la longevidad (Koubova & Guarente, 2003) son; la inhibición de las vías de IGF-1/Insulina (IIS) y de señalización de mTOR, y la activación de las vías de señalización AMPK y de las sirtuinas. La relación inversa entre la ingesta de calorías y la duración de la vida sugiere que los factores implicados en la regulación del metabolismo energético pueden ser reguladores clave de la RC (Figura 4). Así, los efectos secundarios antienvjecimiento se traducen en una mejora de la esperanza de vida y de la salud, y en un aumento de la longevidad.



**Figura 4.** Esquema de las principales vías que participan en los mecanismos de la restricción calórica y su impacto en la salud (Solon-Biet et al., 2015). Mammalian target of rapamycin (MTOR); AMP-activated protein kinase (AMPK); Sirtuin 1 (SIRT1); insulin-like growth factor-1 (IGF); Forkhead transcription factors (FOXO); protein kinase B (AKT); suppression protein p53 (p53).

Ayuno intermitente: Como se ha discutido, aunque la RC es una poderosa intervención que prolonga la vida en multitud de especies animales, la reducción continua de la ingesta de calorías o alimentos es difícil de llevar a cabo en la vida cotidiana de los seres humanos. Las investigaciones relacionadas con el ayuno, como el ayuno intermitente (IF), (también conocido como alimentación restringida en el tiempo; TRF), el ayuno en días alternos (ADF), el ayuno prolongado (PF) o la dieta que mimetiza el ayuno (FMD) (Tabla 1), han surgido como alternativas prometedoras a la RC, ya que comparten muchos de los efectos beneficiosos (Martin et al., 2006) e incluso se ha demostrado que el ADF y la FMD aumentan la longevidad en roedores (Brandhorst et al., 2015; Fontana et al., 2010; Xie et al., 2017). Durante el ayuno se obtienen importantes beneficios para la salud, como una mayor sensibilidad a la insulina, menor nivel de inflamación, menor riesgo de síndrome metabólico, mejora en la calidad del sueño, energía y concentración, mejora el perfil lipídico y promueve el balance adecuado en las hormonas del hambre y la saciedad, preservación de la masa muscular, disminución de la grasa corporal y niveles de autofagia óptimos (Patterson & Sears, 2017)

**Tabla 1.** Breve resumen de los tipos de restricción calórica (Di Francesco et al., 2018).

Tipo de RC	Descripción
<i>Ayuno intermitente</i> ( <i>Intermittent Fasting; IF</i> )	Se restringe la ventana de alimentación a 12-22 horas. Protocolo 12/12, 16/8, 20/4, 22/2
<i>Ayuno en días alternos</i> ( <i>Alternate Day Fasting; ADF</i> )	Alternancia de 24 horas de ayuno (o 25% de las necesidades energéticas diarias) con un periodo de alimentación ad libitum de 24 horas
<i>Dieta que mimetiza el ayuno</i> ( <i>Fasting Mimetic Diet; FMD</i> )	Intervención de 5-7 días donde se ingieren entre 500-800 kcal/día, simulando los efectos de un ayuno prolongado

Por último, mencionar un importante y reciente estudio en el que se demostró que un ayuno intermitente durante 30 días desde el amanecer hasta el atardecer ejerce efectos protectores contra el cáncer, regula al alza proteínas que protegen contra la obesidad, la diabetes y el síndrome metabólico, induce proteínas clave que participan en la reparación del ADN y el sistema inmunológico y protege también de enfermedades degenerativas como el Alzheimer (Mindikoglu et al., 2020).

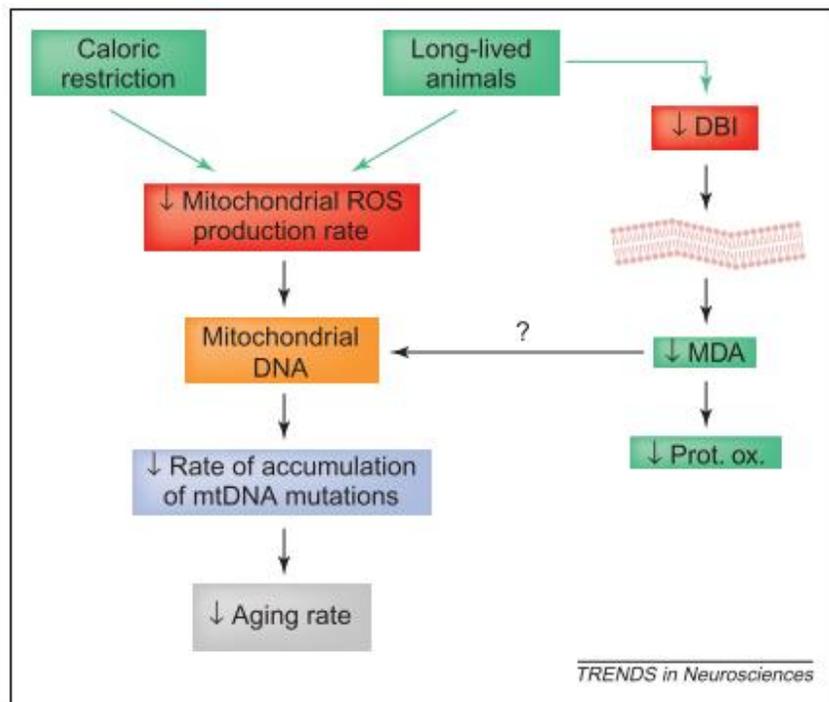
### 4.3 Mecanismos a través de los cuales la restricción calórica aumenta la longevidad

Una vez analizados los “marcadores distintivos” del envejecimiento, a continuación, se detallará cómo la restricción calórica afecta a cada uno de estos rasgos clave para, en última instancia promover la longevidad.

#### 4.3.1 Restricción calórica y la estabilidad genómica

La importancia y las graves consecuencias de un ADN alterado han llevado a los Gerontólogos a una investigación sin precedentes para prevenir las enfermedades asociadas al envejecimiento y promover una vida más saludable y longeva. Se ha documentado que la RC ofrece un retraso en la aparición de los cambios fisiológicos y patológicos asociados a la edad, así como una prolongación en la duración de la vida de los animales incluyen el aumento de la capacidad de reparación del ADN, la alteración de la expresión de diversos genes, un cambio transcripcional hacia el metabolismo energético y la reducción del estrés oxidativo (Anderson & Weindruch, 2012). La literatura científica

muestra cómo una RC del 40% en ratones durante 6 semanas redujo la producción de especies reactivas de oxígeno mitocondrial (ROS) y los valores de la 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) en el ADN nuclear y mitocondrial, en distintos tejidos (Sohal et al., 1994). Esto va acompañado de un menor daño oxidativo sobre las proteínas y la peroxidación lipídica y afecta de manera positiva al ritmo del (G. Barja, 2005; Gustavo Barja, 2004). Esto es importante debido a que las ROS pueden causar la alteración o la pérdida permanente de la información genética, y resulta alentador conocer que estas alteraciones asociadas a la edad pueden ser revertidas gracias a la RC (Figura 5).



**Figura 5.** Esquema de los resultados disponibles en mamíferos en relación con el envejecimiento, el estrés oxidativo y la restricción calórica (Gustavo Barja, 2004). Double bond index (DBI); Malondialdehyde (MDA); Lipoxidation-derived protein modification (Prot. ox.).

En 2020 se realizó un amplio estudio del perfil transcripcional de *Rattus Norvegicus* para analizar el envejecimiento y observar cómo la RC lo modula a nivel unicelular. Se analizaron unas 200.000 células en nueve tejidos de ratas jóvenes y viejas alimentadas ad libitum y sometidas a un 30% de RC, entre los 18 y 27 meses de edad. Algunos de los datos que considero importantes a destacar de este estudio es que, se regularon genes que codifican factores de transcripción involucrados en la inmunomodulación y en el metabolismo. Además, la acumulación de células senescentes en distintos tejidos envejecidos (tejido adiposo blanco, renal y hepático) se revirtió con la RC. La acumulación de la citoquina proinflamatoria TNF- $\alpha$  en el suero de las ratas envejecidas fue

suprimida también gracias a la RC. En resumen, este estudio sugiere que la RC moderada retrasa la aparición de fenotipos asociados al envejecimiento y prolonga la vida útil de estos mamíferos (Ma et al., 2020).

#### 4.3.2 Restricción calórica y alteraciones epigenéticas

Los efectos beneficiosos de la RC se producen a través de un amplio abanico de mecanismos moleculares, que se solapan en gran medida con los rasgos distintivos del envejecimiento, entre los cuales destacan los factores epigenéticos. Entre los muchos factores del estilo de vida, los factores nutricionales se consideran uno de los más influyentes en las modificaciones epigenéticas. En este contexto, es comprensible la influencia epigenómica de la RC en las modificaciones del envejecimiento (Gensous et al., 2019). Dos códigos epigenéticos principales dependientes de la RC se cree que poseen el control para desempeñar un papel crucial en el retraso del envejecimiento y la longevidad; la metilación del ADN y la modificación de las histonas (ver *figura 6*).

##### ***Restricción calórica y metilación del ADN:***

La metilación del ADN se trata de una de las modificaciones epigenéticas más importantes, y se basa en la adición de un grupo metilo a un residuo de citosina, preferentemente en dinucleótidos CpG, agrupándose en islas CpG, y suelen encontrarse alrededor de los sitios de unión de inicio de la transcripción de los genes. Por un lado, el nivel global de metilación de ADN genómico disminuye con la edad y se sabe que la cantidad de metilación del ADN en una región reguladora de un gen está inversamente relacionada con la activación de dicho gen. Por otra parte, se produce una metilación de loci genómicos específicos. Algunas islas CpG cerca de los promotores de genes que se hipermetilan con la edad, provocando la represión de genes cercanos como ocurre con RUNX3, implicado en la tumorigénesis y el envejecimiento (Bridger et al., 2016). Los estudios muestran que la RC es capaz de mediar sobre los aberrantes perfiles de metilación del ADN inducidos por el envejecimiento. Se demostró que la RC aumentó los niveles de metilación de algunos protooncogenes como Ras, en células pancreáticas de rata (*Tabla 2*). Como se ha discutido, un promotor génico hipermetilado puede ser reconocido por complejos represores transcripcionales, lo que lleva a silenciar la expresión de estos oncogenes (Gensous et al., 2019). En otro estudio se utilizó un sistema *in vitro* con células de mamífero mediante la reducción de glucosa en el medio de cultivo. Se encontró que una hipermetilación del ADN de un sitio de unión al factor de transcripción E2F-1 en el promotor del gen p16INK4a (*tabla 2*) provocaba su regulación a la baja contribuyendo así la RC a la prolongación de la vida útil (Li et al., 2011). En este sentido, existe una tendencia a que

la vía de la metilación del ADN controle fundamentalmente genes clave relacionados con el cáncer durante la RC.

**Tabla 2.** Algunos de los genes regulados por factores epigenéticos durante la restricción calórica.

Tabla modificada de (Li et al., 2011).

Gen implicado	Función en el envejecimiento	Regulación Epigenética	Efecto de la RC
<b>p16INK4a</b>	Gen supresor de tumor que inhibe el ciclo celular. Se acumula en el envejecimiento	Metilación del ADN Metilación y acetilación de histonas (mediada por SIRT1 y HDAC)	Regulación negativa
<b>RUNX3</b>	Factor de transcripción que interviene en el desarrollo. Aumenta la metilación con la edad	Metilación del ADN	Regulación positiva
<b>H-ras</b>	Oncogén que acelera el envejecimiento	Metilación del ADN	Regulación negativa
<b>Ku70</b>	Proteína necesaria en el proceso de reparación no homóloga del ADN. Regula la apoptosis y reparación de ADN en el envejecimiento	Acetilación de histonas (mediada por SIRT1)	Regulación negativa

Otro aspecto importante en los cambios relacionados con la edad va dirigido a las enzimas ADN metiltransferasas (DNMT), que catalizan la adición del grupo metilo al ADN. Se observa una clara disminución de la actividad y/o expresión de la DNMT1 durante el envejecimiento. En respuesta a la RC la actividad de la DNMT1 se eleva significativamente corrigiendo así, los niveles de hipometilación. Además, estas enzimas desempeñan un papel crítico en la regulación de la senescencia celular de las células madre humanas, y el aumento de su expresión mediante la RC mejora la función cerebral en el hipocampo del ratón. En base a estos estudios es probable que la RC module la metilación del ADN, a través de los niveles de expresión y/o de las actividades enzimáticas de las DNMT individuales. En un estudio realizado en monos Rhesus de entre 22-30 años, expuestos a una RC del 30% desde los 7 a los 14 años, se mostraron los efectos de la RC sobre la metilación del ADN que fueron detectables en distintos tejidos, descubriendo que la RC protege

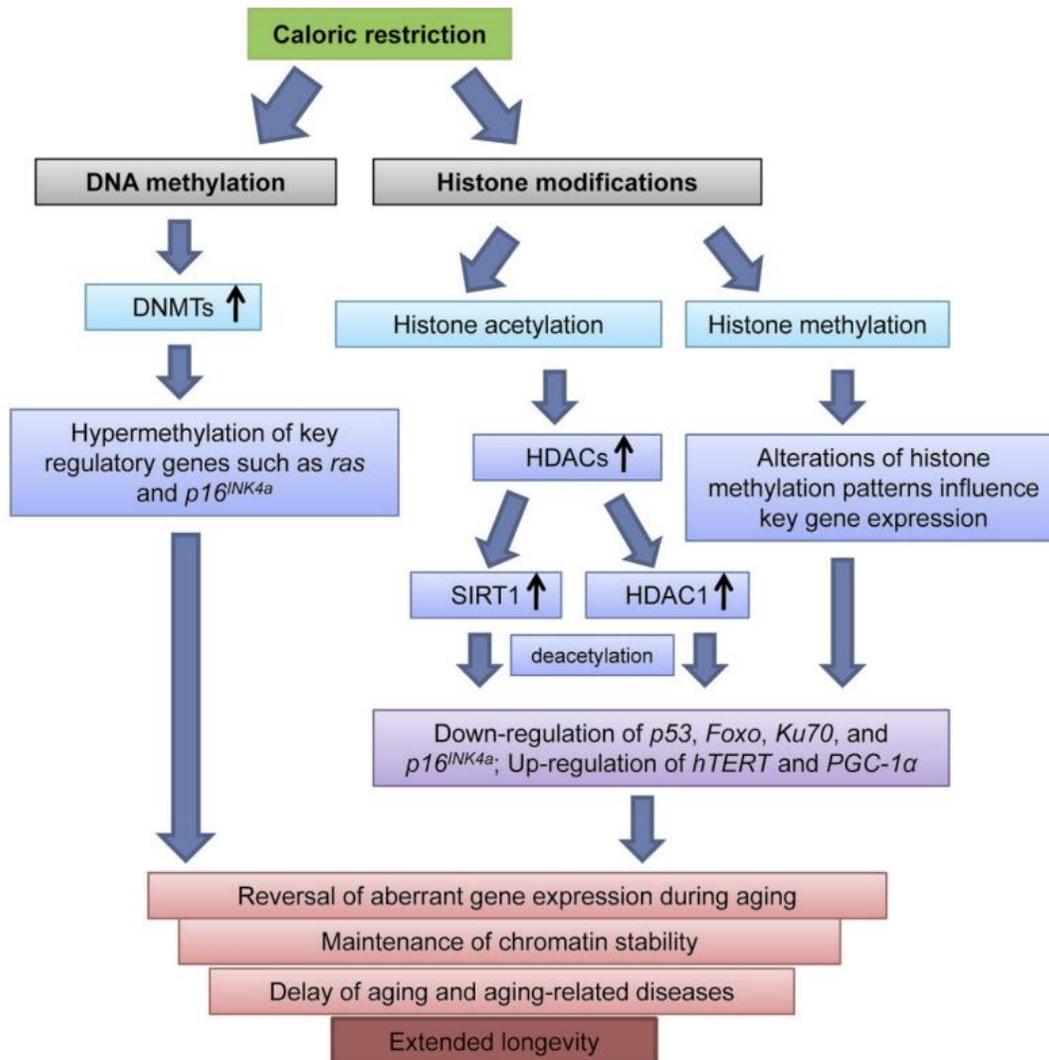
contra la desregulación de la metilación del ADN asociada a la edad y conectando estas modificaciones epigenéticas con un aumento en la duración de la vida (Maegawa et al., 2017).

***La restricción calórica y remodelación de las histonas:***

El ADN se enrolla en torno a unas proteínas llamadas histonas, formando la estructura básica de la cromatina, el nucleosoma. Con el envejecimiento, en ellas se producen modificaciones postraduccionales que pueden inducir cambios en la estructura de la cromatina de diversas especies, incluyendo la metilación, acetilación y desacetilación (ver Figura 6). Las modificaciones de las histonas a su vez, son catalizadas por enzimas específicas, entre ellas las sirtuinas. La activación de las sirtuinas se observa en diversos organismos incluidos los humanos sometidos a RC y contribuyen a un aumento de la salud y la longevidad al participar en la regulación epigenética de genes específicos (Sen et al., 2016).

*Acetilación y Desacetilación de histonas:* Los procesos de acetilación y desacetilación de las histonas son catalizados por enzimas específicas HAT y HDAC denominadas histona acetiltransferasa e histona desacetilasa respectivamente. Las sirtuinas son enzimas desacetilasas de proteínas dependientes de la nicotinamida adenina (NAD<sup>+</sup>) asociadas a la acetilación de proteínas. Se descubrió que las sirtuinas retrasaban el envejecimiento en organismos inferiores y, más recientemente, se ha demostrado que de los 7 tipos de sirtuinas (SIRTs 1-7) que existen en los mamíferos, las que parecen mediar en los efectos sobre el metabolismo y la longevidad son sólo SIRT1, SIRT3 y SIRT6 (Bridger et al., 2016). Es importante destacar el descubrimiento de que la sobreexpresión sistémica o específica de tejido de alguna de estas sirtuinas también aumenta la estabilidad genómica, reduce la señalización de NF-κB y mejora la homeostasis metabólica a través de la desacetilación de histonas (Fontana & Partridge, 2015). En un estudio en el que se utilizaron líneas celulares humanas de fibroblastos de pulmón, se reportó la SIRT1, activada por la restricción de glucosa, puede unirse directamente al promotor de p16INK4a y disminuir su expresión (Tabla 2), a través de sus efectos de desacetilación, contribuyendo así a retrasar el envejecimiento y a prolongar la vida útil celular (Li et al., 2011). Además de su función de desacetilación, las HDACs participan en la regulación de la expresión génica a través de multitud de factores de transcripción, y proteínas reguladoras específicas y se ha informado de que la actividad epigenética de la HDAC aumenta con la intervención de la RC. Estudios en ratones muestran que la RC regula al alza la expresión de SIRT1 debido al aumento de los niveles de NAD<sup>+</sup>.

La SIRT1 activada desacetila la proteína p53 (un importante gen supresor de tumores), inhibiendo su transactivación y expresión génica. Además el estrés oxidativo genera daños en el ADN, y SIRT1 y SIRT6 desacetilan diversos componentes de la maquinaria de reparación del ADN como la proteína Ku70, lo que le permite inactivar el factor pro-apoptótico Bax, inhibiendo la apoptosis (K. W. Chung et al., 2013; Guarente, 2011).



**Figura 6.** Esquema de la regulación de las vías epigenéticas a través de la restricción calórica (Li et al., 2011). DNA methyltransferases (DNMTs); Histone deacetylase (HDAC); Histone acetyltransferase (HAT); Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α); Human telomerase reverse transcriptase (hTERT).

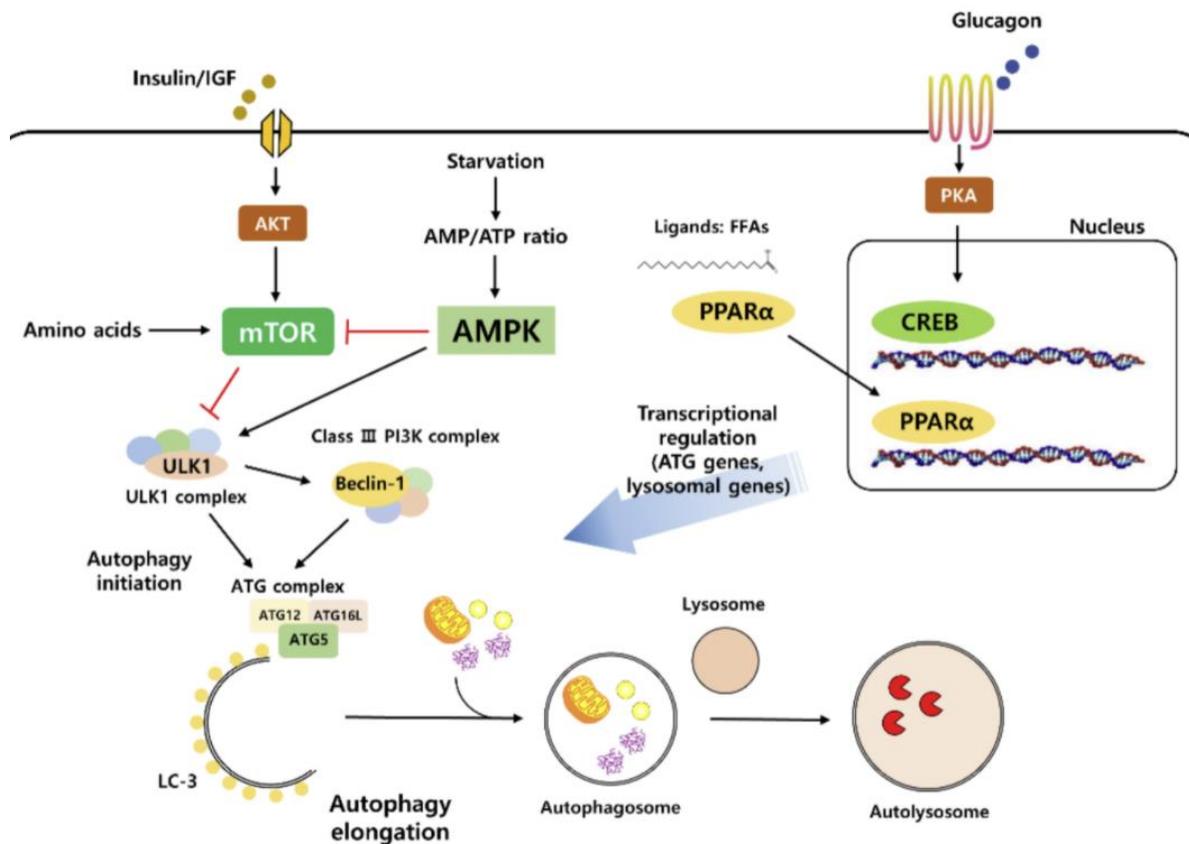
Metilación de Histonas: Las diferentes formas de metilación de las histonas muestran patrones únicos de asociación con proteínas específicas, que reconocen estos marcadores y conducen al silenciamiento o a la activación de los genes. Los estudios en células humanas demuestran que el estado de metilación de los residuos de lisina de las histonas puede regular la expresión de ciertos genes como p16INK4a y la transcriptasa inversa de la telomerasa humana (hTERT) contribuyendo al aumento de la vida útil en condiciones de RC (Li et al., 2011). Por tanto, se sugiere que los cambios epigenéticos capaces de modular la RC, son un valioso mecanismo para retrasar el proceso de envejecimiento y las enfermedades asociadas al mismo, permitiendo en última instancia un aumento de la longevidad.

#### **4.3.3 Restricción calórica y la proteostasis**

La actividad proteolítica general está alterada en el proceso del envejecimiento y se ha contrastado en estudios que muestran cómo las ratas alimentadas ad libitum, muestran una respuesta autofágica-proteolítica disminuida en las ratas de 6 meses y es casi insignificante en las ratas de mayor edad, detectando también proteínas de larga vida en el hígado que no se degradaron adecuadamente (Del Roso et al., 2003). La hipótesis de que la RC funciona como un estresor leve generando una respuesta hormética que lleva a un aumento de la expresión de proteínas de resistencia al estrés está bien respaldada por la literatura científica. La HSP70 es una chaperona molecular perteneciente a la familia de proteínas de choque térmico (HSF/HSP) que desempeña una función crucial en la proteostasis y reduce la proteotoxicidad. Se ha demostrado que la sobreexpresión de HSP70 prolonga la vida del nematodo *C. elegans* en un 50%. Por ejemplo, en un estudio de comprobaron que la RC del 40% a lo largo de la vida indujo en un 150% los niveles de HSF1 y HSP70 en el músculo sóleo de ratas viejas de 22 meses (Selsby et al., 2005).

En humanos, se demostró que la RC a largo plazo regula significativamente las transcripciones de la vía HSF y aumenta los niveles de proteína HSP70 en el músculo esquelético, sugiriendo que la RC desempeña su papel antienvjecimiento al participar en la desaceleración de la acumulación de proteínas dañadas y disfuncionales y mantener la homeostasis en respuesta al estrés (Yang et al., 2016). En esta dirección, la actividad proteolítica y la alteración en la señalización de nutrientes están directamente asociadas con la autofagia. En condiciones de estrés, incluido el déficit de nutrientes que causa la RC, se activa eficazmente la autofagia para preservar la función y promover la supervivencia celular del organismo, a través de sensores de nutrientes clave como mTOR, AMPK y las sirtuinas (SIRT1), cuyas vías están estrechamente interconectadas (López-Otín et al., 2016).

**mTOR:** Señales como los factores de crecimiento (IGF-1), la insulina o los aminoácidos activan esta vía. El complejo proteico mTORC1 está relacionado con los cambios de señalización de la autofagia. mTORC1 se activa en condiciones de riqueza de nutrientes y/o energía y su activación es suficiente para inhibir la autofagia fosforilando directamente el gen ULK1 y otros componentes del complejo ATG (genes relacionados con la autofagia). Además, mTOR puede reprimir la autofagia fosforilando el factor de transcripción EB (TFEB), que participa en la expresión de genes lisosomales y autofágicos y el cual se activa durante la privación de energía (Kaeberlein et al., 2013) (Figura 7).



**Figura 7.** Las señales de detección de nutrientes regulan la autofagia (Ki Wung Chung & Chung, 2019). Mammalian target of rapamycin (mTOR); AMP-activated protein kinase (AMPK); Sirtuin-1 (SIRT1); insulin-like growth factor-1 (IGF); protein kinase B (AKT); Peroxisome proliferator factor-activated receptor  $\alpha$  (PPAR $\alpha$ ); CRE-binding protein (CREB).

**AMPK:** Las principales causas por las que disminuye la concentración celular de ATP son el ayuno, la restricción calórica y el ejercicio. El aumento de los niveles de AMP: ATP activan directamente la AMPK mediante la enzima quinasa hepática B1 (LKB1) e induce a la célula a ahorrar energía para

mantener la homeostasis metabólica. A continuación la AMPK induce la autofagia por varios mecanismos que resultan en la inhibición de la vía de señalización mTOR (Rubinsztein et al., 2011) (Figura 7). Al reducir la ingesta de alimentos potenciamos el ayuno y a través de este se producen cambios en los niveles plasmáticos de glucosa, insulina y glucagón. En este sentido, la RC también puede inducir la autofagia inhibiendo la señalización del IGF1. Durante la RC, la regulación de la proteína de unión al CRE (CREB) y el receptor activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR) por el glucagón, inducen la expresión de genes autofágicos como ATG7, ULK1 y TFEB (Ki Wung Chung & Chung, 2019). Por último, la baja disponibilidad de energía celular aumenta los niveles de NAD<sup>+</sup> y se activa la sirtuina 1 (SIRT1), pudiendo inhibir a mTORC1. Cada vez hay más pruebas que apoyan la idea de que la autofagia desempeña un papel crucial en los efectos beneficiosos de la RC en todas las especies y los estudios respaldan el hecho de que el aumento de la función autofágica, puede ser una diana interesante para retrasar el envejecimiento y promover la longevidad (Yang et al., 2016).

#### **4.3.4 Restricción calórica y la función mitocondrial**

Las mitocondrias y sus componentes son vulnerables al estrés oxidativo lo que termina perjudicando a la función celular y aumentando posibilidad de muerte celular. Se examinaron los hepatocitos en presencia de suero de ratas sometidas a un 40% de RC a largo plazo (6-12 meses) y fueron comparadas con los de ratas alimentadas ad libitum. Se demostró que la RC produce un aumento significativo en la expresión de genes implicados en el metabolismo energético mitocondrial además de conseguir un transporte de electrones altamente eficiente a través de la cadena respiratoria. Se observó que la expresión de los factores respiratorios nucleares (NRF) y de PPAR $\alpha$  fueron regulados al alza, los cuales controlan la expresión de genes que codifican los complejos mitocondriales y promueven el aumento de la respiración, demostrando que la RC mejora la función mitocondrial e induce mayor cantidad de mitocondrias eficientes (López-Lluch et al., 2006). Se realizó un importante estudio en humanos no obesos para examinar la función mitocondrial del músculo esquelético, bajo una RC del 25% durante 3 meses. Se observó una notable inducción del contenido de ADNmit, siendo este un marcador de la masa mitocondrial. Además, la expresión del ARNm de SIRT1 aumentó en un 113% en los grupos de RC. El déficit de energía provoca el aumento de los niveles de AMP celular, activando la AMPK y esta a su vez promueve la expresión de SIRT1. SIRT1 desacetila entonces al coactivador transcripcional PGC-1 $\alpha$  que se desplaza al núcleo y modula la

biogénesis mitocondrial, además de favorecer la eliminación de mitocondrias disfuncionales mediante la activación de autofagia (Civitarese et al., 2007).

Recientemente también se ha informado de que la SIRT3 desempeña un rol importante en la función mitocondrial. Los ratones con una dieta de RC del 30% respecto a los alimentados Ad.lib durante 12 meses, mostraron un aumento de los niveles de SIRT3 en el hígado y músculo esquelético. SIRT3 desacetila y activa enzimas mitocondriales implicadas en la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos y promueve la activación de los sistemas antioxidantes mediante la desacetilación de la superóxido dismutasa de manganeso (MnSOD), suprimiendo así la producción de las ROS. Además se observó que SIRT3 se une a FOXO3a promoviendo la transcripción de genes de respuesta al estrés oxidativo. A su vez, la translocación de FOXO3a a las mitocondrias a través de una vía dependiente de AMPK, provoca la desacetilación de FOXO3a dependiente de SIRT3, regulando al alza la expresión de diversos genes mitocondriales y vinculando así las vías AMPK-FOXO-SIRT3 con los efectos antienvjecimiento de la RC (Kincaid & Bossy-Wetzel, 2013). En definitiva, se propone que la restricción calórica actúa como un potente inductor de la biogénesis de mitocondrias eficientes, así como un regulador clave del metabolismo energético mitocondrial, mostrando una estrecha relación entre la resistencia al estrés oxidativo y la longevidad.

#### **4.3.5 Restricción calórica y la comunicación intercelular**

Ha sido ampliamente estudiado por la literatura científica que una importante alteración de la comunicación intercelular es la inflamación. La desregulación de los procesos inflamatorios está asociada con muchas enfermedades metabólicas y degenerativas, y existe evidencia de que la RC puede contrarrestarlos (López-Otín et al., 2013). Una fuente de generación de ROS relacionada con la inflamación es la ciclooxigenasa (COX), que da lugar a la producción de tromboxanos, prostaglandinas y prostracilinas. Se ha observado que la RC ejerce una potente modulación de la actividad del NF- $\kappa$ B, que a su vez es responsable de la transcripción de muchas proteínas proinflamatorias como el TNF- $\alpha$ , varias interleucinas y enzimas como la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y la COX-2. Se demostró que la RC regula significativamente a la baja los factores de transcripción del factor NF- $\kappa$ B, suprimiendo la mayoría de estos mediadores proinflamatorios, y demostrando así que la RC amortigua la inflamación crónica asociada a la edad en humanos (Yang et al., 2016). Por otro lado, los investigadores descubrieron que los niveles de expresión del ARNm de los PPARs en riñones de ratones envejecidos se reestablecían con la RC. Es importante resaltar la importancia fisiológica que ejerce la RC sobre la familia de receptores PPARs, ya que regulan al alza

el I $\kappa$ B, inhibidor citosólico de NF- $\kappa$ B, y suprime la activación de este, mostrando una reducción en la producción de citoquinas proinflamatorias y restaurando el estado redox celular (K. W. Chung et al., 2013). La RC aumenta la expresión de SIRT1 y SIRT6 modulando el proceso de la inflamación. SIRT1 desacetila la proteína p65 del NF- $\kappa$ B impidiendo su capacidad para activar la producción de mediadores proinflamatorios y la SIRT6 desacetila las histonas en los promotores de los genes regulados por el NF- $\kappa$ B suprimiendo aún más la respuesta proinflamatoria (Guarente, 2011). Además, la desacetilación dependiente de SIRT1 promueve el atrapamiento nuclear del factor de transcripción FOXO1, impidiendo la expresión de NF- $\kappa$ B e induciendo la expresión de genes en las vías descendentes que regulan positivamente el metabolismo, el ciclo celular y las respuestas al estrés oxidativo (Kim et al., 2008). Por último, cabe mencionar que en un estudio con hombres y mujeres sanos se observó que la RC a largo plazo, aumentó la concentración de cortisol en sangre en comparación con los sujetos sedentarios, lo que llevó a una disminución de los niveles de TNF- $\alpha$ . La elevación de los niveles de glucocorticoides es una adaptación esencial necesaria para hacer frente a diversos factores de estrés y el efecto hormético que provoca la RC promueve estos efectos antiinflamatorios (Yang et al., 2016). Por lo tanto la RC sigue siendo la intervención no genética más eficaz contra las agresiones inflamatorias crónicas lo que lleva a la extensión de la vida en muchas especies.

#### **4.3.6 Restricción calórica y las vías de detección de nutrientes**

La literatura propone que la manipulación de cómo se detectan los nutrientes es clave para promover la salud y la vida útil a nivel celular y del organismo, y está demostrado que la relación inversa entre la ingesta calórica y la duración de la vida sugiere que la RC participa regulando factores clave implicados en el metabolismo energético.

Vía de la Insulina/IGF-1: La RC disminuye la glucemia y provoca una señalización a la baja de la IGF-1, favoreciendo un cambio de la proliferación celular hacia la reparación y el mantenimiento, favoreciendo la homeostasis. Una de las claves está en mejorar la sensibilidad y evitar la resistencia de esta hormona, ya que se relaciona con sufrir múltiples enfermedades metabólicas. Esto se consigue al disminuir la ingesta calórica, que lleva a un aumento en la relación AMP: ATP celular, activando la vía AMPK, la cual contribuye a la supervivencia celular y activa la autofagia (Barzilai et al., 2012). Los múltiples estudios realizados desde hace décadas muestran que muchas de las mutaciones que reducen las funciones de la GH, el IGF-1 o sus dianas descendentes como la vía AKT/mTOR y FOXO, prolongan sustancialmente la vida en organismos modelo que van desde la

levadura hasta los ratones (Fontana et al., 2010). La RC promueve un importante mecanismo, ya que al disminuir los niveles de insulina/IGF-1, conduce a la inhibición de AKT, activando los factores de transcripción FOXO. Estos, se translocan al núcleo promoviendo la expresión de múltiples genes que regulan las vías de longevidad, ya que controlan la reparación del ADN, la autofagia, la actividad antioxidante, la resistencia al estrés y la apoptosis (Fontana & Partridge, 2015). Además, la RC promueve la liberación por parte de los hepatocitos del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-21), e inhibe localmente la señalización de GH/IGF-1 y participa también en las vías de detección de nutrientes regulando distintas funciones metabólicas como la gluconeogénesis, la oxidación de ácidos grasos, la cetogénesis o la actividad mitocondrial. El FGF21 también activa la AMPK y la SIRT1, por lo que posee un vínculo entre la nutrición y el envejecimiento (Solon-Biet et al., 2015).

Vía mTOR: el mTOR es considerado como el gran sensor de nutrientes que poseen nuestras células. Gracias a la ausencia de nutrientes en condiciones de restricción calórica el complejo TSC provoca la inhibición de MTORC1. Además, al disminuir los niveles de ATP y NADH se produce la activación de AMPK y SIRT1 que inhiben directamente la vía mTOR y activan la autofagia, además de promover la biogénesis mitocondrial a través de PGC-1 $\alpha$ , resultando este proceso en una retroalimentación positiva (Kaeberlein et al., 2013). Por su parte, la activación desproporcionada de la señalización de mTOR se ha relacionado con varias enfermedades relacionadas con la edad, como la diabetes mellitus tipo 2, el Alzheimer, el Parkinson, enfermedades cardiovasculares o el cáncer (Barzilai et al., 2012). Será necesario una mayor investigación antes de trasladar intervenciones farmacológicas como la rapamicina a los humanos, pero resulta alentador conocer que el aumento de la longevidad que promueve la RC está mediado, en parte, por la disminución de la señalización de mTORC1.

Vía AMPK: La activación de AMPK inducida por la RC provoca una regulación de las vías anabólicas; Se inhibe la enzima Acetil-CoA-carboxilasa, imprescindible en la síntesis de ácidos grasos y se inhibe la enzima hidroxil-3-metil-glutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa) involucrada en la síntesis de colesterol. Estos mecanismos cobran sentido debido a que la AMPK limita la energía disponible para sintetizar nuevas moléculas (Hardie et al., 2012). Además la AMPK fosforila directamente al coactivador PGC-1 $\alpha$  activándolo, promoviendo la oxidación y el uso de ácidos grasos como combustible (Ki Wung Chung & Chung, 2019). Otro regulador metabólico que deriva del tejido adiposo es la adiponectina, un potente activador de la AMPK. Se comprobó que la RC del 40% a corto plazo semanas aumentaba la expresión del gen de la adiponectina en ratones C57BL/6. La adiponectina redujo la producción de glucosa y estimuló a las células a metabolizar la grasa

almacenada, y se sabe que este cambio en el metabolismo genera menos ROS. Además, posee tener propiedades antiinflamatorias, antidiabéticas y antiaterogénicas demostrando su beneficio para un envejecimiento saludable (López-Otín et al., 2016; Speakman & Mitchell, 2011). Tras la restricción calórica, la AMPK también promueve el catabolismo de la glucosa a través de la glucólisis, y regula la captación de glucosa por el transportador de glucosa GLUT4. Estas vesículas captan la glucosa de la sangre y se transportan a las membranas para abastecer a la célula de energía, en ausencia de insulina. Ya se ha visto que la AMPK activa la autofagia a través de ULK1, y al reciclar los componentes disfuncionales de las células madre del tejido muscular se demostró que la RC posee un efecto protector contra la sarcopenia, que sabemos, afecta de manera sustancial a la calidad de vida de los humanos. Esto se observó en ratas de 17 meses con una RC del 35% (Speakman & Mitchell, 2011). En definitiva, la reprogramación metabólica que produce la activación de la vía AMPK mediante la RC vincula de nuevo los sistemas de detección de nutrientes con el aumento de la longevidad (Martin et al., 2006).

Vía de las Sirtuinas: Las sirtuinas también funcionan como sensores que representan el estado metabólico de la célula. La adaptación del exceso de energía de la alimentación Ad.lib a la RC desencadena una transición hacia un aumento del metabolismo oxidativo. La RC aumenta la expresión de SIRT1 en múltiples tejidos desde la levadura a los roedores lo que conduce a un aumento de la longevidad. La activación de SIRT1 activa la vía del AMPK y la autofagia, inhibe la vía del mTOR y la inflamación mediada por la vía del NF- $\kappa$ /TNF- $\alpha$ , y favorece la biogénesis mitocondrial (Almendáriz-Palacios et al., 2020; Kim et al., 2008). En conjunto estos efectos favorecen el metabolismo oxidativo en el músculo, el tejido adiposo y el hígado, favoreciendo la sensibilidad a insulina y la resistencia al estrés. Estos hallazgos muestran que la RC induce una respuesta a la alteración de la disponibilidad de nutrientes y la sobreexpresión de las sirtuinas conducen a una reprogramación metabólica favoreciendo la homeostasis y promoviendo las vías de la longevidad.

#### **4.3.7 Restricción calórica y el agotamiento de células madre**

Existe una relación inversa entre el envejecimiento y la función de las células madre. Además en las neuronas, la neurogénesis está limitada en la vida adulta. Según los estudios, la RC y el ejercicio físico son una terapia protectora para el envejecimiento saludable al mejorar la sensibilidad a la insulina, disminuir la inflamación crónica de bajo grado, y aumentar la plasticidad neuronal. Los efectos de la RC a largo y a corto plazo han demostrado que promueven la proliferación de células madre en el hipocampo de ratones envejecidos (Erbaba et al., 2021). Utilizando el músculo

esquelético de ratones jóvenes y adultos, se demostró que la RC a corto plazo aumentó la disponibilidad y la actividad de las células madre. Se propone que la reducción de la ingesta de calorías altera la fisiología y la función de las células madre musculares, además de mejorar la capacidad de reparación muscular endógena. También se propone que SIRT1 puede regular el metabolismo mitocondrial en las células satélite tratadas con CR a través de la activación de PGC-1 $\alpha$ , AMPK y FOXO (Cerletti et al., 2012).

#### 4.3.8 Restricción calórica y la senescencia celular

El aumento de la proliferación celular se asocia con un aumento del daño al ADN y con la tumorigénesis. La RC disminuye la proliferación celular y promueven la reparación del ADN al aumentar el tiempo que pasan en la fase G0/G1 del ciclo celular. Se sugiere que la RC desempeña un mecanismo protector contra el cáncer y el envejecimiento debido a baja capacidad de reparación del ADN que se produce con la edad. Parece ser por tanto que los beneficios de la RC en la duración de la vida y la salud están fuertemente asociados con su función en la regulación del ciclo celular (Erbaba et al., 2021). Por otro lado, la senescencia celular también está causada por el acortamiento de los telómeros (López-Otín et al., 2013). En 2013 se realizó un estudio en el que la RC dio lugar al mantenimiento de los telómeros en ratones, y los resultados demuestran que la RC atenúa la erosión de los telómeros asociada al envejecimiento y que ejerce una sinergia con la sobreexpresión de TERT (subunidad catalítica de la telomerasa), aumentando la calidad de vida y la longevidad de los ratones (Vera et al., 2013).

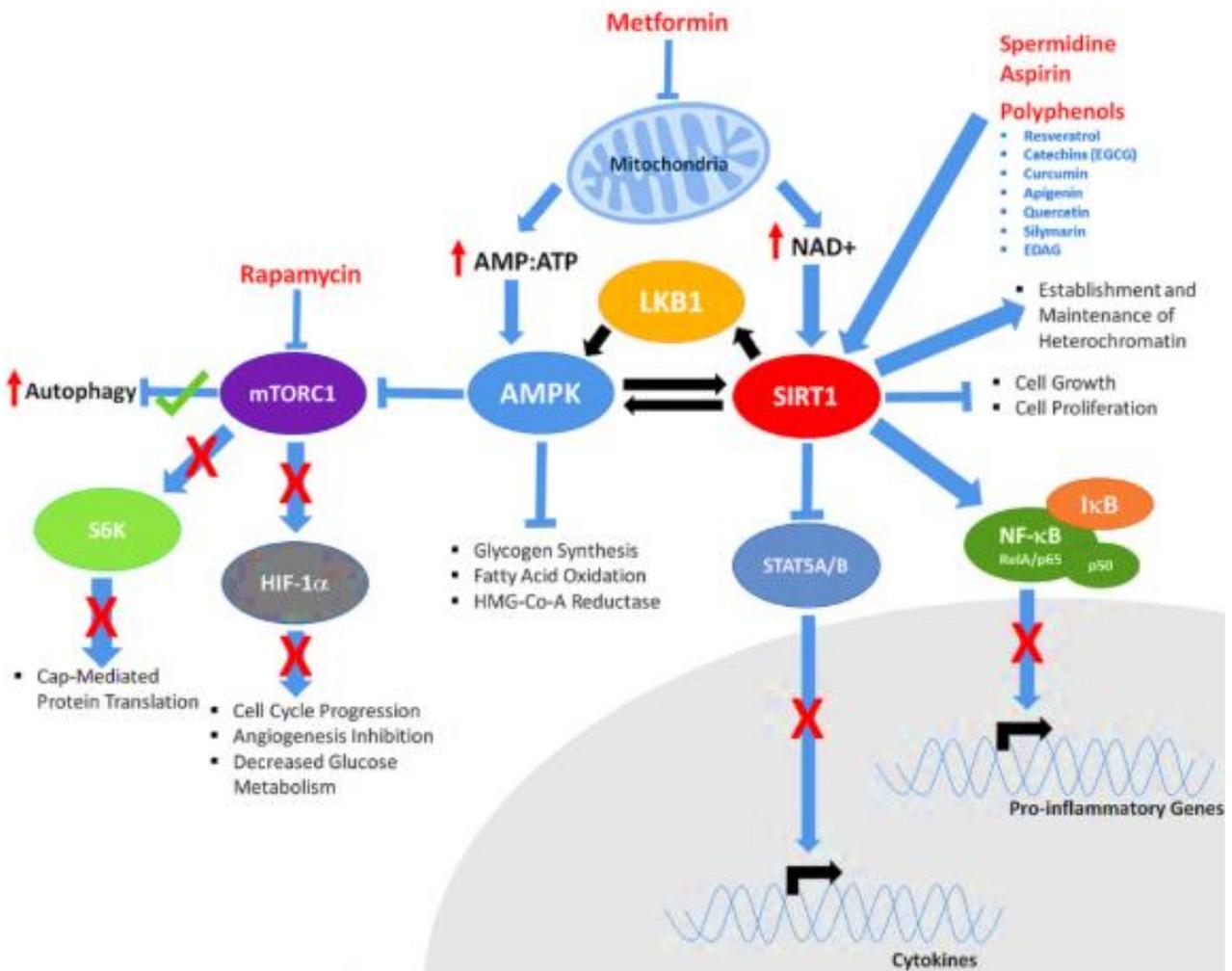
Además, de las estrategias no farmacológicas mencionadas para el control del envejecimiento, la identificación de las vías de regulación de la longevidad ha conducido a importantes estudios de intervenciones farmacológicas con medicamentos (rapamicina, metformina) y otros compuestos naturales (espermidina y polifenoles) (ver Figura 8), que imitan los cambios observados durante la RC sin la necesidad de reducir la ingesta de alimentos, ya que para la mayoría de las personas este régimen les resulta poco atractivo y difícil de implementar. Cabe destacar que los principales responsables del efecto beneficioso de estos compuestos son miméticos de la restricción Calórica. Por ejemplo;

Metformina: La metformina, un agente hipoglucemiante derivado de las guanidinas naturales, se prescribe actualmente para el tratamiento de la diabetes de tipo II ya que disminuye los niveles de insulina e inhibe la gluconeogénesis hepática. Sorprendentemente, este compuesto parece ser

beneficioso contra diversas enfermedades relacionadas con la edad, incluyendo el cáncer, el síndrome metabólico, trastornos cardiovasculares y neurodegenerativos. La metformina actúa a activando la AMPK y SIRT1 e inhibiendo la señalización de la vía de la insulina/IGF-1 y mTOR (Campbell et al., 2017). Distintos estudios en ratones tratados con metformina muestran una disminución de los marcadores inflamatorios al disminuir los niveles de IL-6, TNF- $\alpha$  y atenuar la señalización de NF- $\kappa$ B. A su vez, induce la activación del factor nuclear eritroide 2 (NRF2) y la regulación al alza de la proteína SH2 (CISH), regulando negativamente la producción de citoquinas proinflamatorias, mitigando así la desregulación inducida por el envejecimiento (Kulkarni et al., 2020). De hecho, se ha reportado que la suplementación a largo plazo con un 0,1% de metformina en la dieta de ratones de mediana edad, aumentó en un 5,83% la duración de la vida, mientras que una mayor concentración del fármaco fue tóxica y disminuyó en un 14,4% la vida útil de los animales (Martin-Montalvo et al., 2013). En definitiva, se puede afirmar que la RC y la metformina tienen impactos fisiológicos comunes, destacando la inducción de la autofagia, el aumento de la sensibilidad a la insulina y de la protección antioxidante, lo que lleva a una menor inflamación crónica (Ki Wung Chung & Chung, 2019).

Rapamicina: Los compuestos que imitan los efectos de la restricción calórica frenando la capacidad de las células para percibir los nutrientes son prometedores miméticos de la RC. Debido a sus propiedades antitumorales e inmunosupresoras comenzó su uso en estudios clínicos, y en 2006 se propuso que la rapamicina se podría utilizar para retrasar el envejecimiento y mejorar múltiples funciones fisiológicas deterioradas con la edad (Madeo et al., 2019). Al igual que la RC, la rapamicina forma un complejo proteico que induce la inhibición de mTORC1. Aunque la rapamicina activa la autofagia a través de la inhibición de la mTOR, también muestra otros efectos beneficiosos a través de la regulación de otras vías de señalización. Por ejemplo, disminuye la actividad del factor de iniciación de la traducción 4E-BP1, lo que provoca una disminución del crecimiento celular, la proliferación y la traducción de proteínas. La inhibición de mTORC1 también disminuye la expresión génica mediada por p53 (Almendáriz-Palacios et al., 2020). Estos mecanismos moleculares resultan en una menor respuesta inflamatoria y la promoción de la apoptosis. Numerosos estudios han demostrado que la intervención farmacológica con rapamicina prolonga la vida en levaduras, nematodos y moscas de la fruta. Además, en un importante estudio se demostró que los ratones tratados con rapamicina a partir de los 6 meses

de edad, aumentó la longevidad en un 18% en las hembras y en un 10% en los machos (Harrison et al., 2009).



**Figura 8.** Esquema sobre los mecanismos derivados de los miméticos de la restricción calórica en el envejecimiento. (Bridger et al., 2016). Mammalian target of rapamycin (mTOR); AMP-activated protein kinase (AMPK); Sirtuin-1 (SIRT1); nuclear factor- $\kappa$ B; (NF- $\kappa$ B); ribosomal protein S6 kinase (S6K); hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ); Kinase enzyme complex (I $\kappa$ B)

Espermidina y polifenoles: La espermidina es una poliamina natural. Las concentraciones de poliaminas en los mamíferos están determinadas por el aporte nutricional, su síntesis por la microbiota intestinal, por la absorción, biosíntesis, catabolismo celular y por la excreción urinaria. A su vez, las concentraciones tisulares de espermidina disminuyen con la edad. Sin embargo, la administración de suplementos de espermidina, así como el aumento de la absorción de alimentos ricos en esta, ha demostrado que promueve la salud y ofrece un aumento de la esperanza de vida

en distintos organismos incluidos los humanos. Además, se demostró que una dieta rica en poliaminas reduce la mortalidad de los ratones envejecidos (Madeo et al., 2019). La espermidina se considera un compuesto antienvjecimiento que comparte muchos rasgos beneficiosos y vías moleculares con la RC. En este sentido, la espermidina disminuye la acetilación de proteínas mediante la inhibición de varias acetiltransferasas. La EP300 es una de las acetiltransferasas reguladas por la espermidina, e inhibe la acetilación de genes relacionados con la autofagia. Por tanto la inhibición de EP300 por la espermidina es suficiente para inducir la autofagia (Ki Wung Chung & Chung, 2019). Además el control autofágico que ejerce la espermidina parece estar mediado por la regulación del factor de transcripción FOXO, así como por la inhibición de las histonas acetiltransferasas (HAT) (Bridger et al., 2016), dando lugar a una reprogramación epigenética. Por otro lado, la espermidina regula la inflamación mediante la inducción de macrófagos antiinflamatorios (M2) y reclutando al factor NF-κB en el citoplasma, reduciendo la expresión de genes proinflamatorios. Estos efectos se comprobaron con un estudio en el que los macrófagos de los ratones tratados con espermidina mejoraron la enfermedad intestinal inflamatoria (Liu et al., 2020).

En general, se ha demostrado que la espermidina desempeña un papel fundamental en la homeostasis general, y que la suplementación con esta se asocia a una menor mortalidad cardiovascular, y a una mejor respuesta inmunitaria contra el cáncer al favorecer la inmunovigilancia y al suprimir la tumorigénesis. También preserva la función mitocondrial, mejora la proteostasis y previene la senescencia de las células madre (Madeo et al., 2018). Por tanto estos resultados en conjunto califican a la espermidina como otro candidato prometedor que imita los efectos beneficiosos de la RC, siendo otra intervención que retrasa el envejecimiento y las enfermedades asociadas al mismo, promoviendo la longevidad.

## 5. CONCLUSIONES

Gracias al conocimiento del que disponemos hoy día sobre la biología del envejecimiento y a la identificación de los rasgos distintivos que lo caracterizan, se han propuesto una serie de vías de la longevidad que están íntimamente conectadas entre sí y resulta alentador saber que existen estrategias no farmacológicas como la restricción calórica, así como miméticos de la restricción calórica que se oponen a los cambios fisiopatológicos asociados a la edad. Ha sido demostrado que reducir un pequeño porcentaje de la ingesta calórica total sin causar desnutrición es capaz de regular el envejecimiento a través de diferentes mecanismos moleculares y producir alteraciones epigenéticas y metabólicas que promueven la longevidad en multitud de especies animales. Se espera por tanto que la combinación de estrategias nutricionales y farmacológicas de lugar a futuras intervenciones que retrasen el envejecimiento, mejoren la salud humana, y aumente la calidad de vida de las personas a medida que envejecemos, alejándonos de la enfermedad.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

1. Almendáriz-Palacios, C., Mousseau, D. D., Eskiw, C. H., & Gillespie, Z. E. (2020). Still Living Better through Chemistry: An Update on Caloric Restriction and Caloric Restriction Mimetics as Tools to Promote Health and Lifespan. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), 9220. <https://doi.org/10.3390/ijms21239220>
2. Anderson, R. M., & Weindruch, R. (2012). The caloric restriction paradigm: Implications for healthy human aging. *American Journal of Human Biology*, 24(2), 101–106. <https://doi.org/10.1002/ajhb.22243>
3. Anton, S., & Leeuwenburgh, C. (2013). Fasting or caloric restriction for Healthy Aging. *Experimental Gerontology*, 48(10), 1003–1005. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2013.04.011>
4. Arsenis, N. C., You, T., Ogawa, E. F., Tinsley, G. M., & Zuo, L. (2017). Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget*, 8(27), 45008–45019. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16726>
5. Baker, D. J., Wijshake, T., Tchkonja, T., Lebrasseur, N. K., Childs, B. G., Van De Sluis, B., Kirkland, J. L., & Van Deursen, J. M. (2011). Clearance of p16 Ink4a-positive senescent cells

- delays ageing-associated disorders. *Nature*, 479(7372), 232–236.  
<https://doi.org/10.1038/nature10600>
6. Balasubramanian, P., Howell, P. R., & Anderson, R. M. (2017). Aging and Caloric Restriction Research: A Biological Perspective With Translational Potential. *EBioMedicine*, 21, 37–44.  
<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.06.015>
  7. Barja, G. (2005). Relationship between mitochondrial oxidative stress and rate of ageing. *Revista Espanola de Geriatria y Gerontologia*, 40(4), 243–249.  
[https://doi.org/10.1016/s0211-139x\(05\)74861-7](https://doi.org/10.1016/s0211-139x(05)74861-7)
  8. Barja, Gustavo. (2004). Free radicals and aging. *Trends in Neurosciences*, 27(10), 595–600.  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2004.07.005>
  9. Barzilai, N., Huffman, D. M., Muzumdar, R. H., & Bartke, A. (2012). The critical role of metabolic pathways in aging. In *Diabetes* (Vol. 61, Issue 6, pp. 1315–1322).  
<https://doi.org/10.2337/db11-1300>
  10. Brandhorst, S., In, Wei, M., Chia, Sedrakyan, S., Navarrete, G., Dubeau, L., Li, Park, R., Vinciguerra, M., Stefano, Mirzaei, H., Mario, Childress, P., Ji, L., Groshen, S., Penna, F., Odetti, P., Perin, L., ... Valter. (2015). A Periodic Diet that Mimics Fasting Promotes Multi-System Regeneration, Enhanced Cognitive Performance, and Healthspan. *Cell Metabolism*, 22(1), 86–99. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.05.012>
  11. Bridger, J. M., Plagge, A., Symonds, M. E., Eskiw, C. H., Gillespie, Z. E., & Pickering, J. (2016). Better Living through Chemistry: Caloric Restriction (CR) and CR Mimetics Alter Genome Function to Promote Increased Health and Lifespan. *Frontiers in Genetics* / *Www.Frontiersin.Org*, 1, 142. <https://doi.org/10.3389/fgene.2016.00142>
  12. Campbell, J. M., Bellman, S. M., Stephenson, M. D., & Lisy., K. (2017). Metformin reduces all-cause mortality and diseases of ageing independent of its effect on diabetes control: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Research Reviews*, 40, 31–44.  
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.08.003>
  13. Cerletti, M., Young, Lydia, Marcia, & Amy. (2012). Short-Term Calorie Restriction Enhances Skeletal Muscle Stem Cell Function. *Cell Stem Cell*, 10(5), 515–519.  
<https://doi.org/10.1016/j.stem.2012.04.002>
  14. Chakkalakal, J. V, Jones, K. M., Basson, M. A., & Brack, A. S. (2012). Europe PMC Funders Group The aged niche disrupts muscle stem cell quiescence. *Nature*, 490(7420), 355–360.  
<https://doi.org/10.1038/nature11438>.The

15. Chung, K. W., Kim, D. H., Park, M. H., Choi, Y. J., Kim, N. D., Lee, J., Yu, B. P., & Chung, H. Y. (2013). Recent advances in calorie restriction research on aging. *Experimental Gerontology*, *48*(10), 1049–1053. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.11.007>
16. Chung, Ki Wung, & Chung, H. Y. (2019). The effects of calorie restriction on autophagy: Role on aging intervention. *Nutrients*, *11*(12), 1–18. <https://doi.org/10.3390/nu11122923>
17. Civitarese, A. E., Carling, S., Heilbronn, L. K., Hulver, M. H., Ukropcova, B., Deutsch, W. A., Smith, S. R., & Ravussin, E. (2007). Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *PLoS Medicine*, *4*(3), 485–494. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040076>
18. Del Roso, A., Vittorini, S., Cavallini, G., Donati, A., Gori, Z., Masini, M., Pollera, M., & Bergamini, E. (2003). Ageing-related changes in the in vivo function of rat liver macroautophagy and proteolysis. *Experimental Gerontology*, *38*(5), 519–527. [https://doi.org/10.1016/S0531-5565\(03\)00002-0](https://doi.org/10.1016/S0531-5565(03)00002-0)
19. Di Francesco, A., Di Germanio, C., Bernier, M., & De Cabo, R. (2018). A time to fast. *Science*, *362*(6416), 770–775. <https://doi.org/10.1126/science.aau2095>
20. Dutta, D., Calvani, R., Bernabei, R., Leeuwenburgh, C., & Marzetti, E. (2012). Contribution of impaired mitochondrial autophagy to cardiac aging: Mechanisms and therapeutic opportunities. *Circulation Research*, *110*(8), 1125–1138. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.111.246108>
21. Erbaba, B., Arslan-Ergul, A., & Adams, M. M. (2021). Effects of caloric restriction on the antagonistic and integrative hallmarks of aging. *Ageing Research Reviews*, *66*, 101228. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101228>
22. Escobar, K. A., Cole, N. H., Mermier, C. M., & VanDusseldorp, T. A. (2019). Autophagy and aging: Maintaining the proteome through exercise and caloric restriction. *Ageing Cell*, *18*(1). <https://doi.org/10.1111/accel.12876>
23. Fontana, L., & Partridge, L. (2015). Promoting Health and Longevity through Diet: From Model Organisms to Humans. *Cell*, *161*(1), 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.02.020>
24. Fontana, L., Partridge, L., & Longo, V. D. (2010). Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science*, *328*(5976), 321–326. <https://doi.org/10.1126/science.1172539>
25. Gensous, N., Franceschi, C., Santoro, A., Milazzo, M., Garagnani, P., & Bacalini, M. G. (2019). The impact of caloric restriction on the epigenetic signatures of aging. *International Journal*

- of Molecular Sciences*, 20(8). <https://doi.org/10.3390/ijms20082022>
26. Gillum, M. P., Kotas, M. E., Erion, D. M., Kursawe, R., Chatterjee, P., Nead, K. T., Muise, E. S., Hsiao, J. J., Frederick, D. W., Yonemitsu, S., Banks, A. S., Qiang, L., Bhanot, S., Olefsky, J. M., Sears, D. D., Caprio, S., & Shulman, G. I. (2011). SirT1 regulates adipose tissue inflammation. *Diabetes*, 60(12), 3235–3245. <https://doi.org/10.2337/db11-0616>
  27. Guarente, L. (2011). Sirtuins, aging, and metabolism. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 76, 81–90. <https://doi.org/10.1101/sqb.2011.76.010629>
  28. Hansen, M., Rubinsztein, D. C., & Walker, D. W. (2018). Autophagy as a promoter of longevity: insights from model organisms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(9), 579–593. <https://doi.org/10.1038/s41580-018-0033-y>
  29. Hardie, D. G., Ross, F. A., & Hawley, S. A. (2012). AMPK: A nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(4), 251–262. <https://doi.org/10.1038/nrm3311>
  30. Harrison, D. E., Strong, R., Sharp, Z. D., Nelson, J. F., Astle, C. M., Flurkey, K., Nadon, N. L., Wilkinson, J. E., Frenkel, K., Carter, C. S., Pahor, M., Javors, M. A., Fernandez, E., & Miller, R. A. (2009). Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*, 460(7253), 392–395. <https://doi.org/10.1038/nature08221>
  31. Holloszy, J. O., & Fontana, L. (2007). Caloric restriction in humans. *Experimental Gerontology*, 42(8), 709–712. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2007.03.009>
  32. Instituto Nacional de Estadística (INE) [en línea] [Consultado en junio 2021] <https://www.ine.es/jaxiT3/Tabla.htm?tpx=27290>
  33. Kaeberlein, M., Johnson, S. C., & Rabinovitch, P. S. (2013). mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature*, 493(7432), 338–345. <https://doi.org/10.1038/nature11861.mTOR>
  34. Kim, D. H., Kim, J. Y., Yu, B. P., & Chung, H. Y. (2008). The activation of NF- $\kappa$ B through Akt-induced FOXO1 phosphorylation during aging and its modulation by calorie restriction. *Biogerontology*, 9(1), 33–47. <https://doi.org/10.1007/s10522-007-9114-6>
  35. Kincaid, B., & Bossy-Wetzell, E. (2013). Forever young: SIRT3 a shield against mitochondrial meltdown, aging, and neurodegeneration. In *Frontiers in Aging Neuroscience* (Vol. 5, Issue SEP). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2013.00048>
  36. Koubova, J., & Guarente, L. (2003). How does calorie restriction work? *Genes and Development*, 17(3), 313–321. <https://doi.org/10.1101/gad.1052903>

37. Kritsilis, M., V. Rizou, S., Koutsoudaki, P., Evangelou, K., Gorgoulis, V., & Papadopoulos, D. (2018). Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(10), 2937. <https://doi.org/10.3390/ijms19102937>
38. Kulkarni, A. S., Gubbi, S., & Barzilai, N. (2020). Benefits of Metformin in Attenuating the Hallmarks of Aging. *Cell Metabolism*, *32*(1), 15–30. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.04.001>
39. Levine, B., & Kroemer, G. (2019). Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective. *Cell*, *176*(1–2), 11–42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.048>
40. Li, Y., Daniel, M., & Tollefsbol, T. O. (2011). Epigenetic regulation of caloric restriction in aging. *BMC Medicine*, *9*, 1–12. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-98>
41. Liu, R., Li, X., Ma, H., Yang, Q., Shang, Q., Song, L., Zheng, Z., Zhang, S., Pan, Y., Huang, P., Fang, J., Li, Y., Liu, Z., Cao, L., Feng, C., Gong, Z., Chen, Y., Wang, Y., Melino, G., ... Shi, Y. (2020). Spermidine endows macrophages anti-inflammatory properties by inducing mitochondrial superoxide-dependent AMPK activation, Hif-1 $\alpha$  upregulation and autophagy. *Free Radical Biology and Medicine*, *161*, 339–350. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.10.029>
42. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The Hallmarks of Aging. *Cell*, *153*(6), 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
43. López-Otín, C., Galluzzi, L., Freije, J. M. P., Madeo, F., & Kroemer, G. (2016). Metabolic Control of Longevity. *Cell*, *166*(4), 802–821. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.031>
44. López-Otín, C., & Kroemer, G. (2021). Hallmarks of Health. *Cell*, *184*(1), 33–63. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.034>
45. Ma, S., Sun, S., Geng, L., Song, M., Wang, W., Ye, Y., Ji, Q., Zou, Z., Wang, S., He, X., Li, W., Esteban, C. R., Long, X., Guo, G., Chan, P., Zhou, Q., Belmonte, J. C. I., Zhang, W., Qu, J., & Liu, G. H. (2020). Caloric Restriction Reprograms the Single-Cell Transcriptional Landscape of *Rattus Norvegicus* Aging. *Cell*, *180*(5), 984–1001.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.008>
46. Madeo, F., Carmona-Gutierrez, D., Hofer, S. J., & Kroemer, G. (2019). Caloric Restriction Mimetics against Age-Associated Disease: Targets, Mechanisms, and Therapeutic Potential. *Cell Metabolism*, *29*(3), 592–610. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.01.018>
47. Madeo, F., Eisenberg, T., Pietrocola, F., & Kroemer, G. (2018). Spermidine in health and disease. *Science*, *359*(6374). <https://doi.org/10.1126/science.aan2788>

48. Maegawa, S., Lu, Y., Tahara, T., Lee, J. T., Madzo, J., Liang, S., Jelinek, J., Colman, R. J., & Issa, J. P. J. (2017). Caloric restriction delays age-related methylation drift. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00607-3>
49. Martin-Montalvo, A., Mercken, E. M., Mitchell, S. J., Palacios, H. H., Mote, P. L., Scheibye-Knudsen, M., Gomes, A. P., Ward, T. M., Minor, R. K., Blouin, M.-J., Schwab, M., Pollak, M., Zhang, Y., Yu, Y., Becker, K. G., Bohr, V. A., Ingram, D. K., Sinclair, D. A., Wolf, N. S., ... De Cabo, R. (2013). Metformin improves healthspan and lifespan in mice. *Nature Communications*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms3192>
50. Martin, B., Mattson, M. P., & Maudsley, S. (2006). Caloric restriction and intermittent fasting: Two potential diets for successful brain aging. *Ageing Research Reviews*, 5(3), 332–353. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2006.04.002>
51. Mindikoglu, A. L., Abdulsada, M. M., Jain, A., Choi, J. M., Jalal, P. K., Devaraj, S., Mezzari, M. P., Petrosino, J. F., Opekun, A. R., & Jung, S. Y. (2020). Intermittent fasting from dawn to sunset for 30 consecutive days is associated with anticancer proteomic signature and upregulates key regulatory proteins of glucose and lipid metabolism, circadian clock, DNA repair, cytoskeleton remodeling, immune system. *Journal of Proteomics*, 217, 103645. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2020.103645>
52. Møller, A. B., Vendelbo, M. H., Christensen, B., Clasen, B. F., Bak, A. M., Jørgensen, J. O. L., Møller, N., & Jessen, N. (2015). Physical exercise increases autophagic signaling through ULK1 in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 118(8), 971–979. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01116.2014>
53. Organización Mundial de la Salud (OMS) [en línea] [Consultado en julio 2021] Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
54. Patterson, R. E., & Sears, D. D. (2017). Metabolic Effects of Intermittent Fasting. *Annual Review of Nutrition*, 37, 371–393. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064634>
55. Rea, I. M., Gibson, D. S., McGilligan, V., McNerlan, S. E., Denis Alexander, H., & Ross, O. A. (2018). Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines. *Frontiers in Immunology*, 9(APR), 1–28. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00586>
56. Rubinsztein, D. C., Mariño, G., & Kroemer, G. (2011). Autophagy and aging. *Cell*, 146(5), 682–695. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.07.030>
57. Selsby, J. T., Judge, A. R., Yimlamai, T., Leeuwenburgh, C., & Dodd, S. L. (2005). Life long calorie restriction increases heat shock proteins and proteasome activity in soleus muscles

- of Fisher 344 rats. *Experimental Gerontology*, 40(1–2), 37–42. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.08.012>
58. Semeraro, M. D., Smith, C., Kaiser, M., Levinger, I., Duque, G., Gruber, H.-J., & Herrmann, M. (2020). Physical activity, a modulator of aging through effects on telomere biology. *Aging*, 12(13), 13803–13823. <https://doi.org/10.18632/aging.103504>
59. Sen, P., Shah, P. P., Nativio, R., & Berger, S. L. (2016). Epigenetic Mechanisms of Longevity and Aging. *Cell*, 166(4), 822–839. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.050>
60. Sohal, R. S., Agarwal, S., Candas, M., Forster, M. J., & Lal, H. (1994). Effect of age and caloric restriction on DNA oxidative damage in different tissues of C57BL/6 mice. *Mechanisms of Ageing and Development*, 76(2–3), 215–224. [https://doi.org/10.1016/0047-6374\(94\)91595-4](https://doi.org/10.1016/0047-6374(94)91595-4)
61. Solon-Biet, S. M., Mitchell, S. J., De Cabo, R., Raubenheimer, D., Le Couteur, D. G., & Simpson, S. J. (2015). Macronutrients and caloric intake in health and longevity. *Journal of Endocrinology*, 226(1), R17–R28. <https://doi.org/10.1530/joe-15-0173>
62. Speakman, J. R., & Mitchell, S. E. (2011). Caloric restriction. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(3), 159–221. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.07.001>
63. Vera, E., Bernardes De Jesus, B., Foronda, M., Flores, J. M., & Blasco, M. A. (2013). Telomerase Reverse Transcriptase Synergizes with Calorie Restriction to Increase Health Span and Extend Mouse Longevity. *PLoS ONE*, 8(1), e53760. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053760>
64. Weindruch, R. (1996). The Retardation of Aging by Caloric Restriction: Studies in Rodents and Primates. *Toxicologic Pathology*, 24(6), 742–745. <https://doi.org/10.1177/019262339602400618>
65. Xie, K., Neff, F., Markert, A., Rozman, J., Aguilar-Pimentel, J. A., Amarie, O. V., Becker, L., Brommage, R., Garrett, L., Henzel, K. S., Hölter, S. M., Janik, D., Lehmann, I., Moreth, K., Pearson, B. L., Racz, I., Rathkolb, B., Ryan, D. P., Schröder, S., ... Ehninger, D. (2017). Every-other-day feeding extends lifespan but fails to delay many symptoms of aging in mice. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00178-3>
66. Xu, J., & Wang, L. (2019). Fasting and caloric restriction in cancer prevention and therapy. *Tumor*, 39(11), 955–960. <https://doi.org/10.3781/j.issn.1000-7431.2019.55.095>
67. Yang, L., Licastro, D., Cava, E., Veronese, N., Spelta, F., Rizza, W., Bertozzi, B., Villareal, D. T., Hotamisligil, G. S., Holloszy, J. O., & Fontana, L. (2016). Long-Term Calorie Restriction

Enhances Cellular Quality-Control Processes in Human Skeletal Muscle. *Cell Reports*, 14(3), 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.12.042>

68. Zhong, L., D'Urso, A., Toiber, D., Sebastian, C., Henry, R. E., Vadysirisack, D. D., Guimaraes, A., Marinelli, B., Wikstrom, J. D., Nir, T., Clish, C. B., Vaitheesvaran, B., Iliopoulos, O., Kurland, I., Dor, Y., Weissleder, R., Shirihai, O. S., Ellisen, L. W., Espinosa, J. M., & Mostoslavsky, R. (2010). The Histone Deacetylase Sirt6 Regulates Glucose Homeostasis via Hif1 $\alpha$ . *Cell*, 140(2), 280–293. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.12.041>