

# **La restricción calórica y el ayuno intermitente como mecanismos para incrementar la longevidad.**



## **TRABAJO DE FIN DE GRADO**

Realizado por: Adelaida Huelva García

Departamento de Fisiología

Facultad de Biología

JUNIO 2022

# ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. RITMOS CIRCADIANOS.....	4
3. REGULACIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS	
3.1 Reloj endógeno principal.....	5
3.2 Relojes periféricos.....	8
3.3 Regulación de relojes con los cambios ambientales e internos	
3.3.1 Núcleo supraquiasmático y luz.....	8
3.3.2 Regulación de los relojes periféricos por el NSQ.....	9
3.3.3 Señales periféricas que afectan al reseteo del NSQ.....	12
4. ENVEJECIMIENTO.....	15
5. LA RESTRINCCIÓN CALORICA Y EL AYUNO INTERMITENTE COMO INTERVENCIONES QUE PUEDEN MEJORAR LA SALUD Y LA LONGEVIDAD.....	18
6. MECANISMOS MOLECULARES POR LOS QUE EL AYUNO INTERMITENTE Y LA RESTRICCIÓN CALÓRICA MEJORAN LA LONGEVIDAD.....	20
7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS.....	23
8. BIBLIOGRAFÍA.....	26

## ABREVIATURAS

**5-HT:** 5-hydroxytryptamina o serotonina

**AI:** Ayuno intermitente

**AMPK:** Proteína quinasa activada por AMP (del inglés: “*AMP-activated protein kinase*”)

**ART:** Alimentación restringida en el tiempo

**AKT:** Proteína quinasa B (del inglés: “*Protein kinase B from AKT-8 cells*”)

***Bmal1*(gen)/ BMAL1**(proteína): Receptor nuclear translocador de aril hidrocarburos (del inglés: “*Brain and Muscle ARNT-Like 1*”)

**cAMP-CREB:** Elemento de respuesta a cAMP (del inglés: “*cAMP response element-binding*”)

***Ckle* (gen):** Caseína quinasa le (del inglés: “*Caseine kinase le*”)

***Clock* (gen)/ CLOCK** (proteína): Reloj (del inglés “*Circadian Locomotor Output Cycles Kaput*”)

***Cry1*, *Cry2* (genes)/ CRY** (proteína): Criptocromo 1 ,2

**DA:** Sistema dopaminérgico/ dopamina

**EROs:** Especies reactivas de oxígeno

**FBXL3:** Caja F y proteína de repetición rica en leucina 3 (del inglés: “*F-Box and Leucine Rich Repeat Protein 3*”)

**FGF21:** Factor de crecimiento de fibroblasto 21 (del inglés: “*Fibroblast growth factor 21*”)

**FOXO:** (del inglés: “*Forkhead-box-O1*”)

**GH:** Hormona del crecimiento (del inglés: “*Growth hormone*”)

**IGF-1:** Factor de crecimiento 1 similar a la insulina (del inglés: “*Insulin-like growth factor 1*”)

**ipRGCs:** Células ganglionares intrínsecamente fotosensibles de la retina (del inglés: “*Intrinsically photosensitive retinal ganglion cells*”)

**mTOR:** Diana de rapamicina de mamíferos (del inglés: “*Mammalian target of rapamycin*”)

**NRF2:** Factor nuclear (derivado de eritroide 2) similar al 2 (del inglés: “*Nuclear factor erythroid 2-related factor 2*”)

**NSQ:** Núcleo supraquiasmático

**OPN4:** Melanopsina (del inglés: “*Opsin-based photopigment 4*”)

**ORX:** Orexinas

**PACAP:** Polipéptido activador de la adenilato ciclasa hipofisaria (del inglés: “*Pituitary adenylate-cyclase-activating polypeptide*”)

**Per 1, Per 2 y Per 3**(genes)/ **PER** (proteína): Periodo 1, 2, 3

**PGC-1a**: Coactivador del receptor gamma 1 alfa activado por el proliferador de peroxisomas. (del inglés: “*Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  co-activator 1  $\alpha$* ”)

**PI3K**: Fosfoinositol quinasa 3 (del inglés: “*Phosphoinositide 3-kinases*”)

**RC**: Restricción calórica

**Rev-Erb  $\alpha$ , Rev-Erb  $\beta$**  (genes)/ **REV-ERB** (proteína): Miembros de la superfamilia D de receptores nucleares de factores de transcripción intracelulares 1 y 2 (del inglés: “*Nuclear Receptor Subfamily 1 group D Member 1 and 2*”)

**ROR  $\alpha$ , ROR  $\beta$ , ROR  $\gamma$** : Miembros de la superfamilia F de receptores nucleares de factores de transcripción intracelulares 1, 2 y 3 (del inglés: “*Nuclear Receptor Subfamily 1 Group F Member 1, 2 and 3*”)

**SIRT1**: Sirtuina 1

**VIP**: Polipéptido intestinal vasoactivo (del inglés: “*Vasoactive intestinal polypeptide*”)

## **RESUMEN**

Hoy en día, el sedentarismo, la ingesta excesiva de alcohol y alimentos o las noches de ocio/estudio, son prácticas tremendamente extendidas en nuestra sociedad. El sueño y la salud siguen estando en segundo plano y esto se constata porque cada vez el envejecimiento se asocia con un mayor número de comorbilidades. Sin embargo, estudios recientes demuestran que la simple sincronización de nuestros ciclos circadianos con las variables ambientales naturales, con prácticas y hábitos como el acostarse temprano y alimentarse solo en ciertas franjas horarias, nos podría proporcionar en un futuro, un envejecimiento más saludable. Para ello, es necesario implementar métodos eficientes para hacer frente a las enfermedades degenerativas y metabólicas que nos provocan los mencionados malos hábitos. En este trabajo destacamos dos importantes intervenciones dietéticas: la restricción calórica y el ayuno intermitente. La primera, prolonga la vida y la salud en organismos modelo y mejora varias enfermedades como puede ser la obesidad o la diabetes tipo 2 en humanos. Sin embargo, debido a nuestros hábitos sociales, este tipo de dieta puede ser difícil de aplicar en la vida real a largo plazo. Por ello, las últimas investigaciones se han centrado en el estudio del ayuno intermitente, un método que se ajusta un poco más al ritmo de vida actual. Así pues, este TFG resume las claves fisiológicas principales por las que el ayuno intermitente y la restricción calórica sincronizadas con nuestros ritmos circadianos, son capaces de incrementar la longevidad y fomentar un envejecimiento saludable.

### **1. INTRODUCCIÓN**

Envejecer es inevitable, pero su velocidad y progresión es muy variable (Flanagan et al., 2020). Según la *Organización mundial de la salud (OMS)*: “El envejecimiento, es el resultado de la acumulación de una gran variedad de daños moleculares y celulares a lo largo del tiempo, lo que lleva a un descenso gradual de las capacidades físicas y fisiológicas, a un mayor riesgo de enfermedad y, en última instancia, a la muerte”. En el año 2020, Flanagan et al, publicaron una revisión que enumeraba los pilares del envejecimiento y en ella se definen dos tipos de envejecimiento. El envejecimiento primario, que se define como la pérdida natural y progresiva de la integridad fisiológica del organismo, y el secundario, que es la aceleración del envejecimiento por factores externos como la ingesta excesiva, la mala condición física, la falta de ejercicio, el estrés, la falta de sueño y otras enfermedades asociadas a todos estos factores (Flanagan et al., 2020).

El envejecimiento es una de las grandes lacras de la humanidad porque, aunque cada vez la esperanza de vida es más larga, la calidad de vida de las personas está empeorando por el envejecimiento secundario. Uno de los factores determinantes es la desregulación de los ritmos circadianos y las enfermedades metabólicas asociadas a esa desregulación y al cambio de la dieta. En la antigüedad la dieta del ser humano se basaba en productos frescos y materias primas no procesadas y, por tanto, era comida saludable. Sin embargo, en la actualidad, la alimentación se basa en productos ultraprocesados y alimentos industrializados con un alto contenido en grasas y azúcares, que promueven la aparición de enfermedades metabólicas como la obesidad o la diabetes tipo 2. Por este motivo, se buscan incansablemente diferentes intervenciones o mecanismos que mejoren la salud y permitan llegar a una edad más avanzada, pero con una mejor salud. Dentro de este campo de investigación, uno de los mecanismos que hasta la fecha ha tenido más éxito es la restricción calórica (RC) y el ayuno intermitente (AI), dietas de las cuales se hablará en este trabajo.

Según un número creciente de estudios, este tipo de dietas contribuye, a través de diversos mecanismos entre los que destaca el mejor funcionamiento de los ritmos circadianos, a una reducción notable del envejecimiento no solo en modelos animales, sino también en humanos.

## **2. RITMOS CIRCADIANOS**

La rotación de la Tierra sobre sí misma ocurre cada 24h, dejando así un ritmo natural de luz y oscuridad. Este hecho, fomentó la evolución de sistemas de medición interna del tiempo que permiten a los seres vivos que los poseen, no solo sincronizar sus procesos fisiológicos con los cambios ambientales, sino, además, anticiparse a la ocurrencia de éstos. Relacionado con esto, uno de los mayores descubrimientos para el ser humano, y a la vez, el peor para su salud, tuvo lugar en 1879, año en el que se inventó la lámpara incandescente. Pasamos de tener luz solar natural solo por el día y realizar todas nuestras actividades cotidianas durante las horas naturales de iluminación, a tener luz artificial tanto por el día como por la noche. Esto afectó a nuestros ritmos circadianos ya que, aunque estén controlados por un reloj endógeno incluso en condiciones constantes, provocó un desequilibrio en nuestra forma de vida. Según el *National Institute of General Medical Sciences*, los ritmos circadianos son cambios físicos, fisiológicos y conductuales que siguen un ciclo de 24h y que responden principalmente a la luz. Algunos ejemplos de variables fisiológicas que varían con un patrón cíclico que se repite cada 24h serían los ciclos de sueño/vigilia, la temperatura, que llega a su pico máximo por la noche y por el día se mantiene cercana a 37°, o la secreción de hormonas.

Si bien es cierto que este patrón rítmico en las variables fisiológicas se conoce desde hace varias décadas, no ha sido hasta hace unos años cuando se ha descubierto la base molecular que permite la medición del tiempo en las células. Así, en el año 2017, Jeffrey C. Hall, Michael Rosbash y Michael W. Young recibieron el premio Nobel de Fisiología o Medicina por el descubrimiento de los mecanismos moleculares que controlan los ritmos circadianos (Hall et al., 2017). Utilizando moscas de la fruta (*Drosophila melanogaster*) como organismo modelo, consiguieron aislar un gen llamado Periodo (*Per*) que controla el ritmo biológico diario. Demostraron que este gen codifica una proteína que se acumula en la célula durante una fase del día/noche y durante la contraria, se degrada. Posteriormente, identificaron componentes proteicos adicionales de esta maquinaria describiendo los mecanismos que dirigen los relojes biológicos. También pudieron observar que todos ellos se autorregulan a través de sus proteínas, generando ritmos de aproximadamente 24 h (Hall et al., 2017). Además, se realizaron estudios de mutagénesis que permitieron identificar moscas mutantes con alteraciones del ritmo circadiano. La caracterización y el análisis de las características de esas mutantes permitió descubrir un pequeño número de genes, denominados genes reloj (o genes *clock*), involucrados en la inducción y el mantenimiento del ritmo circadiano en estos insectos. Más adelante, se clonaron en mamíferos los genes homólogos y se identificaron, a partir de hámsteres o ratones mutantes, nuevos genes reloj (Hernández-Rosas & Santiago-García, 2010).

A continuación, se explicará cómo se producen estos ritmos y sus componentes principales para poder entender la funcionalidad del ritmo circadiano y su relación con otros factores externos como la alimentación.

### **3. REGULACIÓN DE LOS RITMOS CIRCADIANOS**

#### **3.1 Reloj endógeno principal**

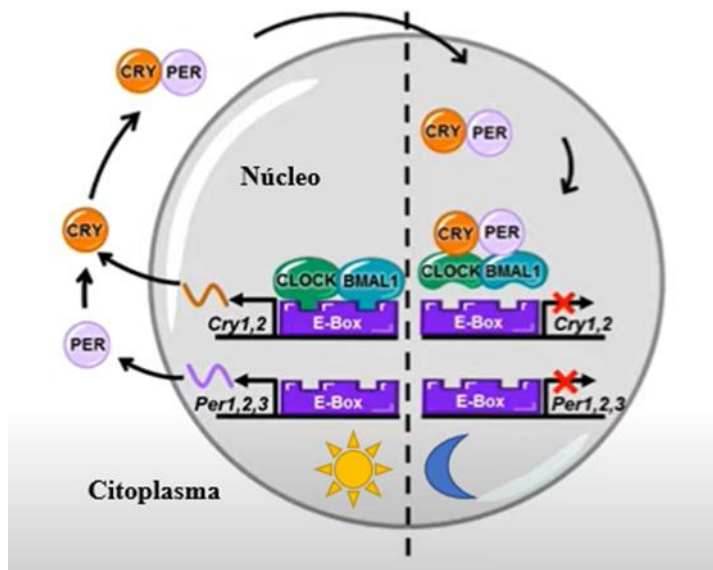
Los ritmos circadianos están regulados por un reloj endógeno principal que se encuentra, en mamíferos, en la parte anterior del hipotálamo (Guadarrama-Ortiz et al., 2014) y es el núcleo supraquiasmático (NSQ). El NSQ tiene el tamaño de un grano de arroz y está formado por unas 100 mil neuronas en humanos. Numerosos estudios (Landgraf et al., 2016; Purnell & Buchanan, 2020; Shimizu & Fukada, 2017) han permitido demostrar que el NSQ es el reloj biológico principal en mamíferos y que es el responsable de regular y sincronizar todos los ritmos circadianos que ocurren en el organismo.

Gracias a los experimentos realizados por Welsh y colaboradores en 1995, se afirmó que el ritmo es consecuencia y no causa de la existencia del reloj endógeno. También sabemos que las

neuronas aisladas de este núcleo poseen un oscilador independiente y que promueven la ritmicidad en otras regiones del cerebro. Además, en la actualidad se sabe que no solo existe un único reloj endógeno, sino que casi todas las células del organismo tienen su propio reloj y éstos constituyen los relojes periféricos. Así, la función principal del NSQ es proporcionar información temporal del ambiente a los relojes periféricos para coordinar y sincronizar todas las células de un mismo órgano (Pilorz et al., 2018). Se ha demostrado que la interrupción o desequilibrio de esta sincronización podría contribuir en el desarrollo y progresión de diversas enfermedades y que es uno de los procesos que se ve afectado durante el envejecimiento (West & Bechtold, 2015).

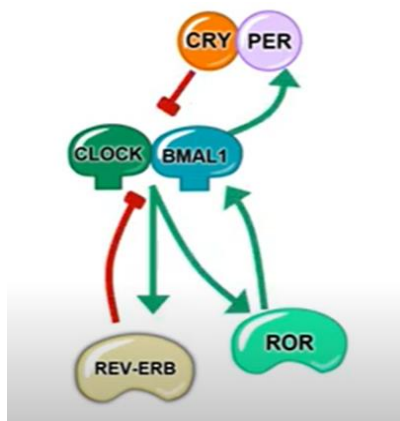
El reloj circadiano central y los relojes periféricos producen su actividad rítmica gracias a ciclos de expresión e inhibición de los denominados genes reloj. En mamíferos se han descrito al menos nueve genes implicados en la regulación de la maquinaria circadiana: reloj (*Clock*), el receptor nuclear translocador de aril hidrocarburos (*Bmal1*), periodo 1,2,3 (*Per 1*, *Per 2*, *Per 3*), criptocromo 1,2 (*Cry1*, *Cry2*), caseína quinasa le (*Ckle*) y miembros de la superfamilia D de receptores nucleares de factores de transcripción intracelulares (*Rev-Erb*) (Reppert & Weaver, 2002). El mecanismo molecular de estos está basado en bucles de retroalimentación transcripcional-traduccionales positivos y negativos que regulan su ritmicidad (**Figura 1**). Los genes reloj se encargan de controlar la actividad circadiana en todos los seres vivos. La manera de regular la expresión de estos genes se da mediante dos lazos de activación/represión transcripcional. El bucle de retroalimentación positiva está controlado por los genes *Clock* y *Bmal1*, mientras que el negativo por los genes *Per* y *Cry* (**Figura 1**) (Hernández-Rosas & Santiago-García, 2010). En humanos, a primera hora de la mañana los factores de transcripción, CLOCK y BMAL1, se translocan al núcleo y se unen a la caja E (*E-box*), lo que permite la transcripción de los genes reloj: *Cry 1,2* y *Per 1,2,3*. A lo largo del día, estos se trasladan al citoplasma y se traducen a proteínas: CRY y PER. Por la noche, estas proteínas llegan a su pico máximo de concentración y comienzan a formar dímeros, los cuales vuelven al núcleo para interactuar con el dímero CLOCK/BMAL1 e inhibir su propia transcripción. El resto de las proteínas son degradadas por diversos sistemas a lo largo de la noche. CRY mediante ubiquitinación de la caja F y proteína rica en repeticiones de leucina 3 (FBXL3), mientras que PER es fosforilada y degradada por la caseína quinasa 1  $\delta$  y  $\epsilon$ . Al amanecer, el ciclo comienza de nuevo (de Assis & Oster, 2021).





**Figura 1. Mecanismo molecular del reloj circadiano en mamíferos.** Cada 24 horas, las proteínas CLOCK y BMAL1, por el día, se unen a las E-box para dar lugar a los genes Cry y Per. En el citoplasma se traducen a proteínas PER y CRY que forman un dímero e inhiben su propia transcripción por la noche. Gráfico obtenido y modificado de UC San Diego BioClock Studio. (The BioClock Studio. The Food Entrainable Oscillator, 2020).

El dímero CLOCK/BMAL1 también promueve la expresión de otros factores de transcripción llamados ROR ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) y REV-ERB ( $\alpha$ ,  $\beta$ ). Estos factores de transcripción controlan la transcripción de BMAL1. Las proteínas REV-ERB reprimen indirectamente la transcripción de BMAL1, mientras tanto el factor de transcripción ROR aumenta los niveles de la proteína BMAL1. Ambos factores de transcripción actúan como un bucle auxiliar para reforzar el núcleo del reloj circadiano y ayudar a mantener correctamente su oscilación (**Figura 2**) (de Assis & Oster, 2021).



**Figura 2. Bucle de activación e inhibición de CLOCK/BMAL1.** CLOCK Y BMAL1 promueven la expresión de REV-ERB y ROR. ROR activa la transcripción de BMAL1 mientras que REV-ERB la inhibe. Gráfico obtenido de UC San Diego BioClock Studio. (The BioClock Studio. Circadian Clock-Controlled Genes Part 1: Transcriptional regulation, 2020).

En condiciones naturales, los ritmos circadianos están sincronizados con un ciclo de 24h. En cambio, los ritmos endógenos de los mamíferos en condiciones constantes tienen períodos que se desvían ligeramente de las 24h. Es por ello, por lo que cada día estos relojes tienen que sincronizarse con el medio exterior y esto lo hacen a través de los llamados *zeitgebers* (del

alemán: *Zeit*= tiempo, *Geber*=el que da) (Garaulet & Madrid, 2009). Éstos, son claves externas que provocan la sincronización de un ritmo endógeno con el ambiente. En la actualidad, se conocen varios tipos de *zeitgebers*; como la actividad física, el estrés, el sueño/vigilia o la propia ingesta, en la que se centra este trabajo, sin embargo, el más importante para el NSQ es el ciclo de luz/oscuridad como se explica más adelante (Madrid et al., 2018).

### **3.2 Relojes periféricos**

Como se ha mencionado anteriormente, cada célula del organismo tiene su propio reloj endógeno, es decir, que cada célula del órgano va a ser capaz de transcribir los genes reloj. No obstante, cada órgano tendrá su propio ritmo interno corriendo en diferente fase teniendo así, un ciclo específico. Por ello, podríamos decir que el NSQ resetea a cada uno de los órganos del organismo y determina su sincronización y su fase con las claves ambientales. El mecanismo de los relojes periféricos circadianos es muy similar al del NSQ, es decir, también se componen de los bucles de retroalimentación de la transcripción, la traducción y la modificación postraduccional (Brown & Azzi, 2013).

Una de las diferencias más importantes entre los relojes periféricos y el NSQ, es que este último responde principalmente a la luz ambiental, mientras que los primeros responden a una combinación compleja de estímulos nerviosos, señales hormonales y de ingesta de alimentos (Brown & Azzi, 2013). Recientemente, se ha comprobado que la desregulación o desincronización de los relojes periféricos y el reloj principal provoca graves enfermedades como la diabetes (Marcheva et al., 2010), el cáncer, o deficiencias en la función renal y cardíaca (Ko et al., 2011). Por último, los relojes periféricos pueden alinearse con las condiciones externas, pero en ausencia de estos *zeitgebers*, el sistema del reloj se basa en la coordinación de las señales del NSQ (Husse et al., 2015).

### **3.3 Regulación de relojes con los cambios ambientales e internos**

#### **3.3.1 Núcleo supraquiasmático y luz**

El reloj endógeno se resetea con los factores externos todos los días para poder sincronizarse con los cambios ambientales. Como ya se mencionó anteriormente, la principal clave externa o *zeitgeber* es el ciclo de luz/oscuridad (de Assis & Oster, 2021). A principios de la década de los 2000, una investigación pionera de Ignacio Provencio, evidenció la presencia de la melanopsina (OPN4), un nuevo fotopigmento no visual existente en la retina de los mamíferos (Provencio et al., 1998). Se ha demostrado que la OPN4, localizada en las células ganglionares intrínsecamente fotosensibles de la retina (ipRGCs), participa junto con los conos y bastones

de la retina en la sincronización del NSQ con el ciclo ambiental de luz/oscuridad (Hattar et al., 1998). Esta OPN4 no solo sirve para regular los ritmos circadianos, sino que también, es responsable de otros procesos biológicos como la síntesis de melatonina o la contracción de la pupila (de Assis & Oster, 2021).

Tras la captura de fotones por las ipRGC, la melanopsina que se excita con luz de longitud de onda del rango del azul (460-480 nm), cambia su conformación y la información lumínica es transformada en señales eléctricas que viajan a través del tracto retinohipotalámico a la región central del NSQ, la cual contiene neuronas que expresan el polipéptido intestinal vasoactivo (VIP). En el espacio sináptico entre las ipRGCs y las neuronas de la región central del NSQ, se liberan dos neurotransmisores: el glutamato y el polipéptido activador de la adenilato ciclasa hipofisaria (PACAP) (Golombek & Rosenstein, 2010). Conforme la región central del NSQ recibe información directa de la retina, hay un aumento de la transcripción de algunos genes, incluyendo los genes reloj (*Per1/ Per2*). El aumento, inducido por glutamato, del gen *Per* depende principalmente de la señalización del factor de transcripción cAMP-CREB durante la noche, lo que resulta en el reseteo de la maquinaria molecular del reloj circadiano en el NSQ (Golombek & Rosenstein, 2010).

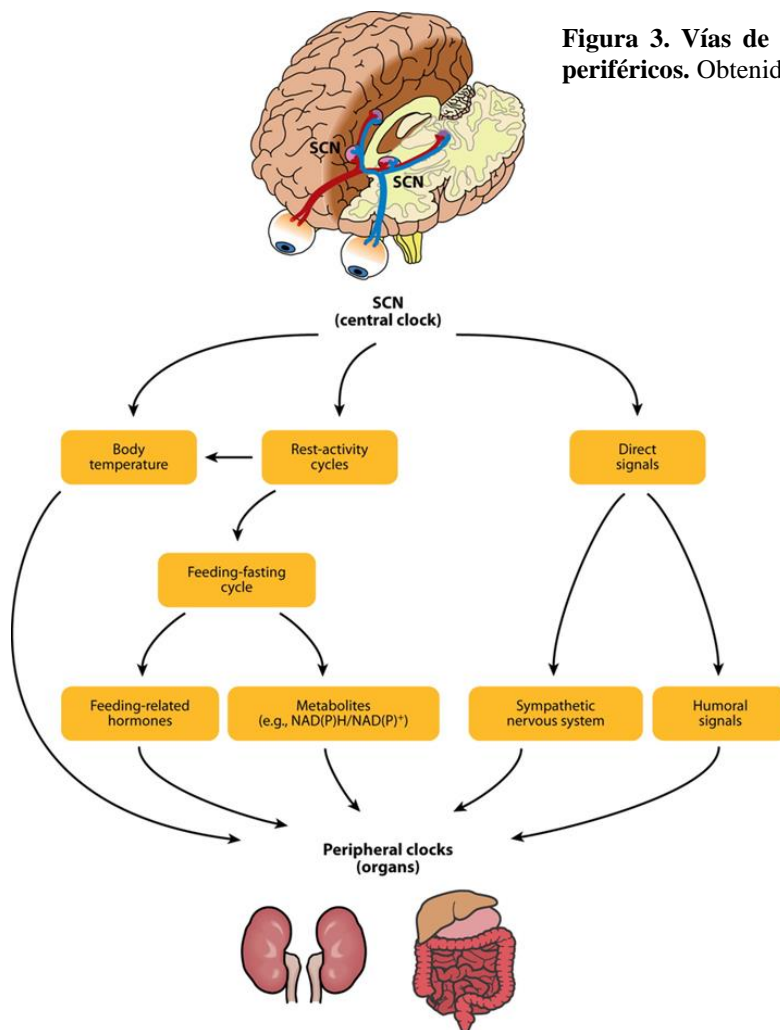
Así, este proceso permite a las neuronas de la región central del NSQ, recibir y procesar la información lumínica externa e iniciar la sincronización de todo el NSQ. Una vez que recibe la entrada de luz, las neuronas de la región central se tienen que comunicar con las neuronas de la región periférica del NSQ y éstas sincronizaran el resto de los relojes del organismo. El NSQ a través de este proceso, y con ayuda del sistema nervioso y endocrino, sincroniza y resetea los distintos relojes periféricos (de Assis & Oster, 2021). Un importante ejemplo de esta regulación lo encontramos en la actividad circadiana de la glándula pineal, el núcleo cerebral encargado de la secreción de melatonina durante la noche. Por un proceso polisináptico, la actividad del NSQ inhibe a esta glándula, de forma que cuando el primero está activo (durante el día en humanos), la producción de melatonina se ve inhibida, y es solo al anoecer, cuando la actividad del NSQ disminuye, cuando ese efecto inhibitorio desaparece. Así, gracias a la acción del NSQ, la melatonina se libera siguiendo un ritmo circadiano con altos niveles por la noche y bajos durante el día (Guadarrama-Ortiz et al., 2014).

### **3.3.2 Regulación de los relojes periféricos por el NSQ**

La sincronización entre el reloj endógeno principal y los periféricos es muy importante para que los ritmos circadianos funcionen correctamente, aunque como ya se dijo anteriormente, los

relojes periféricos son autónomos y no necesitan las entradas del NSQ para generar ritmos (Acosta-Rodríguez et al., 2021).

Son múltiples las vías utilizadas por el NSQ para transmitir la información temporal en forma de señales eléctricas rápidas o señales químicas al resto del organismo. Estas vías entre el NSQ y los relojes periféricos comprenden señales complejas que se dividen en cuatro categorías: estímulos nerviosos simpáticos y parasimpáticos, salidas hormonales (melatonina, glucocorticoides, hormona del crecimiento (GH), entre otras), ritmos vigilia/sueño y de alimentación-ayuno y oscilaciones circadianas del ritmo de la temperatura (**Figura 3**) (Astiz et al., 2019). Estas señales permiten que las células de los órganos periféricos se sincronicen entre ellas. Así, se producirán las respuestas fisiológicas rítmicas en los órganos periféricos adecuadas a cada situación. La fase de cada una de estas respuestas respecto a los ciclos de luz/oscuridad dependerá del tipo de señal que sincronice al órgano, siendo las señales hormonales más lentas que las de origen eléctrico.



**Figura 3. Vías de regulación del NSQ a los relojes periféricos.** Obtenido de: (Dibner et al., 2009).

En los órganos periféricos, sobre todo en los tejidos metabólicamente activos, como el hígado, músculo esquelético o tejido adiposo, uno de los *zeitgebers* más potente que ha sido recientemente descubierto, es el patrón de ayuno/alimentación. Las hormonas relacionadas con la alimentación y derivadas de estos ritmos (por ejemplo: insulina, leptina, oxintomodulina o grelina) son capaces de sincronizar los relojes locales, pero en condiciones naturales de ciclos de luz y oscuridad, apenas ejercen un papel sincronizador en el NSQ, poniendo de manifiesto que la entrada lumínica es el *zeitgeber* más potente en este núcleo. Sin embargo, en ratones, la combinación de la restricción dietética en ciertos momentos del día con una dieta hipocalórica, si parece tener efectos reseteadores del reloj central (de Araujo et al., 2016; Mendoza et al., 2005), indicando que señales derivadas de estas intervenciones pueden alterar el funcionamiento del NSQ. La alimentación sigue un fuerte patrón rítmico circadiano que va acompañado con un incremento de la actividad locomotora. Las especies diurnas de mamíferos distribuyen la alimentación a lo largo de la fase de luz producida por el sol, mientras que los roedores, que son nocturnos, presentan dos fases de alimentación, una al principio de su fase activa al principio de la noche y otra al final de ésta (**Figura 4a**) (Mendoza, 2019). Los mecanismos clásicos de regulación de la ingesta de alimentos involucran dos sistemas principales en el cerebro: un sistema de regulación homeostática del metabolismo, que regula la cantidad de alimento necesaria para la supervivencia del organismo, regulado principalmente por el hipotálamo, y un mecanismo hedónico o de placer que regula la calidad y el tipo de alimento seleccionado e ingerido, regulado por el sistema dopaminérgico (DA). Ambos están unidos fisiológica y funcionalmente por lo que se genera un equilibrio (**Figura 4a**). Además, cuando esa homeostasis se pierde, aparecen patologías metabólicas (Hernández Ruíz de Eguilaz et al., 2018).

Las hormonas mencionadas arriba, tienen la capacidad de modular la actividad celular de los núcleos de ambos mecanismos debido a la presencia de receptores específicos (**Figura 4b**). Así pues, la regulación fisiológica de la ingesta de alimentos depende de la interacción homeostática entre el cerebro y la periferia (Mendoza, 2019). La ingesta de alimentos debe ser regulada en el tiempo debido a que su fisiología está controlada por el reloj y sigue un ritmo circadiano. Por lo tanto, el NSQ coordina el momento de la ingesta metabólica y hedónica de alimentos, influyendo en la calidad y la cantidad de alimentos que se ingieren en un momento determinado del día (Mendoza, 2019). Como conclusión, el reloj endógeno principal controla el patrón rítmico circadiano de alimentación, pero señales derivadas de ésta, y también las que se producen durante el ayuno, pueden alterar el funcionamiento no solo de los relojes periféricos, sino también del NSQ como veremos en el siguiente punto.



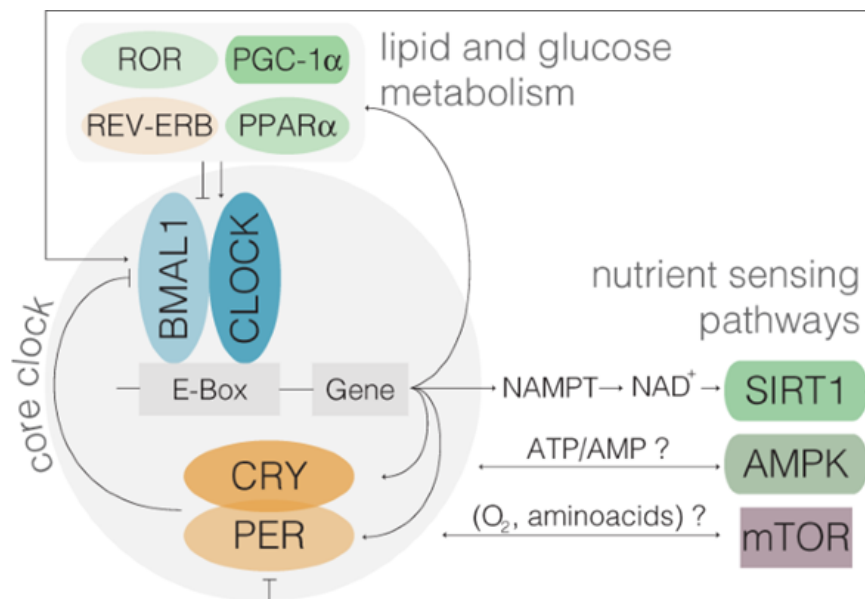
reloj endógeno principal y modificar su patrón de expresión de los genes reloj (Mendoza, 2019). Así, se ha demostrado que tanto el sistema homeostático de alimentación, a través de las orexinas, como el sistema hedónico, a través de la dopamina, son capaces de inhibir o inducir, respectivamente la expresión de los genes *Per* (**Figura 4B**) (Mendoza, 2019). Además, las hormonas relacionadas con el hambre (grelina) y la saciedad (leptina) secretadas por órganos periféricos, también tienen sus efectos sobre el NSQ de forma que refuerzan o coordinan la sincronización de éste con el momento de la alimentación (**Figura 4A**).

Las investigaciones con roedores han permitido comprender mejor el efecto que producen la alimentación y el ayuno sobre el correcto funcionamiento de los ritmos circadianos, sin embargo, en humanos, una mejor comprensión de estos procesos permitiría reducir la preocupante y creciente tasa de enfermedades metabólicas relacionadas con desórdenes de la alimentación. Al igual que se ha demostrado en roedores, en humanos, cuando las horas de alimentación están desfasadas de los ciclos de vigilia/sueño (cenas tardías o incluso alimentación nocturna), los relojes centrales y periféricos se desalinean y esto tiene como consecuencia una peor tolerancia a la glucosa, un aumento del apetito, un mayor consumo alimenticio, el aumento de peso y finalmente una mayor incidencia enfermedades metabólicas (Gill & Panda, 2015; Vetter & Scheer, 2017). Por el contrario, cuando las diferentes comidas se distribuyen en las primeras 6-9 horas del día, se ha observado una mejor absorción intestinal y presión arterial, una mayor tolerancia a la glucosa y respuesta a la insulina, una reducción del estrés oxidativo y una disminución de la tasa metabólica (Poggiogalle et al., 2018; Sutton et al., 2018).

Además, para poder comprender mejor la relación de la ingesta con los relojes circadianos, es importante mencionar que los componentes de las vías que detectan los nutrientes, como sirtuinas (SIRT6), la proteína quinasa activada por AMP (AMPK) y la diana de rapamicina de mamíferos (mTOR), todas ellas asociadas al envejecimiento, presentan oscilaciones específicas de los tejidos debido a una interrelación directa con los genes centrales del reloj. Así, las vías metabólicas de la glucosa, los ácidos grasos y el colesterol están bajo control circadiano (**Figura 5 y 7**) (Acosta-Rodríguez et al., 2021).

Como ya se ha mencionado más arriba, el sistema endocrino también se regula de forma circadiana. En los seres humanos, la insulina, la grelina, la adiponectina y el cortisol se elevan por la mañana/tarde, mientras que la melatonina, la hormona estimulante de la tiroides, la prolactina, la leptina, GH y el factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF-21) se elevan por la tarde/noche. Estas hormonas rítmicas regulan la alimentación y el sueño, y como se verá más adelante, permiten la sincronización de los relojes endógenos y son fundamentales para la

correcta coordinación de los ritmos circadianos a lo largo de la vida y de manera especial, en el envejecimiento (Acosta-Rodríguez et al., 2021).



**Figura 5. Interacción entre los componentes moleculares del reloj circadiano, las vías de detección de nutrientes y las vías metabólicas.** El reloj molecular regula la expresión rítmica de las vías de detección de nutrientes y estas a su vez lo retroalimentan. Obtenido de: (Acosta-Rodríguez et al., 2021).

Por tanto, la influencia sistémica de los ritmos circadianos en la homeostasis de los tejidos, la regulación del sueño, de los patrones de alimentación y del comportamiento está bien establecida, y parece tener vínculos directos con el envejecimiento. Así, el desajuste entre los relojes internos y los cambios diarios del entorno resulta perjudicial para la supervivencia. Sorprendentemente, las intervenciones que restablecen el ritmo circadiano adecuado mejoran la longevidad. Por ejemplo, el trasplante del NSQ fetal en animales envejecidos aumenta la ritmicidad y prolonga la vida y, por el contrario, la perturbación del reloj circadiano por el estilo de vida (por ejemplo: los desórdenes alimenticios, el *jet lag* o el trabajo nocturno) aumenta el riesgo de padecer cáncer, enfermedades cardiovasculares y trastornos metabólicos, lo que conlleva al final a una menor longevidad (Acosta-Rodríguez et al., 2021). Para entender mejor como se relacionan los ritmos circadianos, la alimentación y el envejecimiento hay que profundizar en las causas principales de este último, que es lo que trataremos a continuación.



#### 4. ENVEJECIMIENTO

Como ya se mencionó en la introducción, el envejecimiento se caracteriza por una pérdida progresiva de la integridad física, lo que conduce a una función deteriorada y una mayor susceptibilidad a la muerte (López-Otín et al., 2013). En la actualidad, se conocen cuáles son los procesos fisiológicos básicos que inducen al deterioro celular con la edad. Las investigaciones de López-Otín et al, describieron diversos pilares básicos del envejecimiento (*en negrita*) que explicaremos en detalle (**Figura 6**). Uno de los denominadores comunes del envejecimiento es la **inestabilidad genómica** a lo largo de la vida. La integridad y estabilidad del ADN está en continuo riesgo debido a la acción de agentes externos y también amenazas internas como lo errores en la replicación, las reacciones hidrolíticas espontáneas o la acción de las especies reactivas de oxígeno (EROs). Las células del organismo tienen mecanismos de reparación internos para arreglar las lesiones del ADN provocadas por estos agentes, sin embargo, toda esta maquinaria de reparación funciona de manera menos eficaz con el envejecimiento. Esto provoca la **reducción de los telómeros** y la acumulación de daños en el ADN, acelerándose así todavía más los procesos celulares deletéreos para la célula.



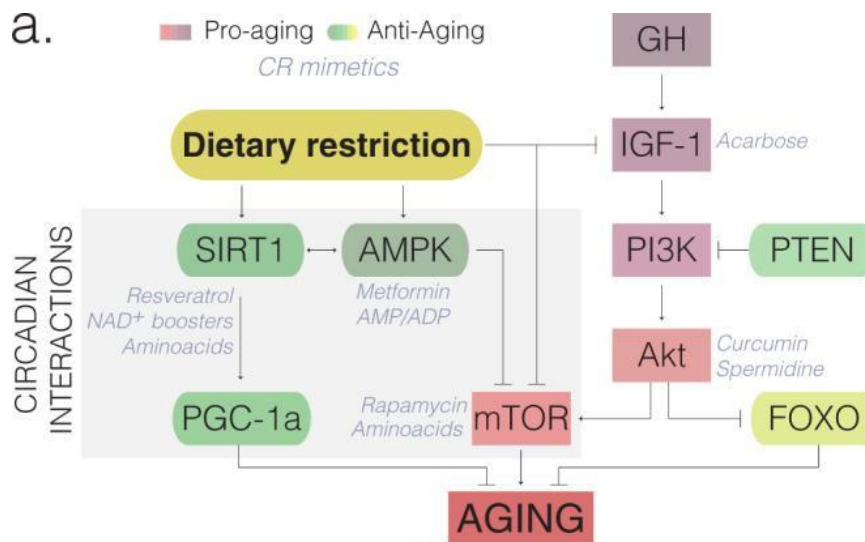
**Figura 6. Los 9 pilares del envejecimiento.** La figura muestra los pilares básicos del envejecimiento descritos en el punto 4: inestabilidad genómica, reducción de los telómeros, cambios epigenéticos, pérdida en la homeostasis de las proteínas, desregulación en la detección de los nutrientes, el mal funcionamiento de las mitocondrias, acumulación de células senescentes, disminución de la disponibilidad de células madre y procesos inflamatorios. Obtenido de: (López-Otín et al., 2013).

El envejecimiento también se caracteriza por **cambios epigenéticos** que provocan que el patrón de genes que se expresan en las células sea diferente a los que lo hacen en el individuo adulto antes de alcanzar la vejez. Estos cambios incluyen alteraciones en el patrón de metilación del ADN, modificaciones en las histonas y la remodelación de la cromatina.

Otro factor importante relacionado con los procesos celulares que tienen lugar durante el envejecimiento es la **pérdida en la homeostasis de las proteínas**, es decir, en la proteostasis. Las células tienen diversos mecanismos para asegurar la estabilidad proteica y controlar el correcto plegado, a través de chaperonas, y degradación de las proteínas con sistemas como el del autofagosoma, el ubiquitin-proteosoma o los lisosomas. Sin embargo, numerosos estudios demuestran que la eficacia de estos mecanismos se va perdiendo con la edad y esto provoca el aumento de proteínas mal plegadas que tienen tendencia a agregarse y formar estructuras que son la base de aparición de enfermedades asociadas al envejecimiento como el Alzheimer, el Parkinson, la sarcopenia o las cataratas.

De la misma manera, los mecanismos que utiliza el organismo para **detectar los nutrientes** se hacen menos eficientes. El eje somatotrófico en mamíferos comprende la GH, liberada por la glándula pituitaria anterior siguiendo un patrón circadiano, y su mediador secundario, IGF-1, que se produce en diversas células en respuesta a la GH, especialmente en los hepatocitos del hígado. Este eje promueve en general la proliferación celular en los tejidos y la inhibición de rutas apoptóticas. Las rutas de señalización iniciadas por la unión del IGF-1 a sus receptores en las células, son las mismas que la que induce la insulina, y por este motivo reciben el nombre de rutas insulina-IGF-1 (**Figura 7**). Así, ambos factores activan rutas evolutivamente muy antiguas relacionadas con el control del envejecimiento como la ruta AKT-mTOR. Las mutaciones de pérdida de función de estos dos últimos componentes producen un aumento de la longevidad tanto en humanos como en modelos animales (Johnson et al., 2013). La ruta mTOR se activa también ante la presencia de una concentración alta de aminoácidos en la dieta y son numerosos los experimentos en modelos animales y en humanos que muestran que la inhibición de esta ruta aumenta considerablemente la longevidad (**Figura 7**). Adicionalmente, existen otras rutas que se activan al detectar bajos niveles de energía y activan los procesos catabólicos durante el ayuno. Entre estas destaca la ruta AMPK, que se activa cuando la relación AMP/ATP

dentro de la célula es muy alta y que a su vez inhibe a la ruta mTOR, o la ruta de las SIRT6, que contribuye a la biogénesis mitocondrial y se activa al detectar altos niveles de NAD<sup>+</sup>. Son numerosos los estudios que demuestran que estas rutas se hacen menos eficientes con el envejecimiento y su inducción a través de diversos fármacos puede promover un mejor estado de salud y un aumento de la longevidad (Herranz et al., 2010; Onken & Driscoll, 2010).



**Figura 7. Vías relacionadas con el envejecimiento reguladas por intervenciones dietéticas.** Estas intervenciones dietéticas (como el AI o la RC) inducen moléculas “antienvjecimiento” (colores verdes), como SIRT1 o AMPK, y reduce las moléculas que promueven el envejecimiento (color rosa-morado) como por ejemplo mTOR. Obtenido de: (Acosta-Rodríguez et al., 2021).

Adicionalmente, el **funcionamiento de las mitocondrias** y la **producción de energía** también se vuelve deficiente en el envejecimiento. Durante muchas décadas, se ha defendido que uno de los efectos deletéreos del mal funcionamiento mitocondrial era la acumulación de EROs y que a su vez éstas constituían un factor esencial en la disfunción mitocondrial y la extensión del daño celular. Sin embargo, las investigaciones más recientes demuestran que las EROs forman parte de un mecanismo celular protector y homeostático que se inicia cuando la célula se encuentra en un estado de estrés. A medida que el daño y el estrés celular aumenta con el envejecimiento, la producción de EROs aumenta y pasado un punto, ya no pueden cumplir su función protectora y su presencia agrava el daño y el estado de senescencia celular (Hekimi et al., 2011). Por tanto, aunque las EROs no constituyan la base de la disfunción mitocondrial en el envejecimiento, otros factores como las mutaciones en el ADN mitocondrial y la pérdida de la regulación de los procesos por los que se degradan y regeneran las mitocondrias, si podrían ser clave en el proceso.

Además, la **acumulación de células senescentes** en combinación con una **disminución de la disponibilidad de células madre** progenitoras que puedan sustituir la función de las células muertas y un proceso deficiente de eliminación de esas células, contribuye a la producción de citoquinas proinflamatorias y a la **inducción de procesos inflamatorios** en diversos órganos durante el envejecimiento (revisado por López-Otín et al., 2013).

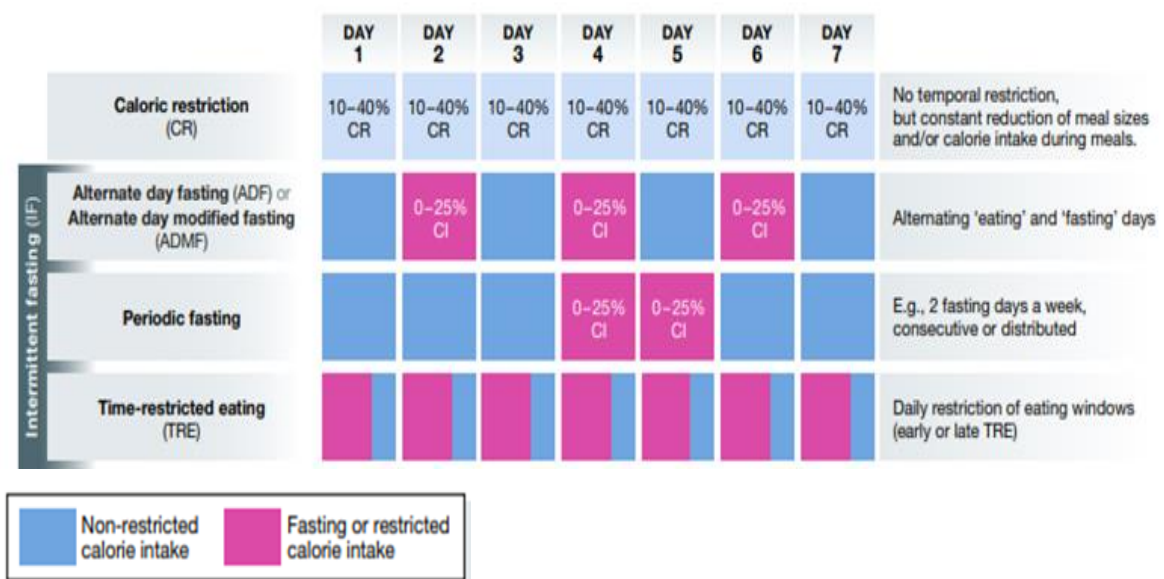
## **5. LA RESTRICCIÓN CALÓRICA Y EL AYUNO INTERMITENTE COMO INTERVENCIONES QUE PUEDEN MEJORAR LA SALUD Y LA LONGEVIDAD**

Durante la época de los 80s y los 90s, el investigador Richard Weindruch lideró diversos estudios en roedores y primates relacionados con el retraso del envejecimiento por RC. Este tipo de dieta se define como una reducción de la ingesta calórica de entre un 10 y un 40% pero sin llegar a la desnutrición (**Figura 8**). Los resultados de sus trabajos permitieron demostrar, por primera vez, que este tipo de intervención aumentaba la longevidad y mejoraba la salud en numerosas especies de mamíferos no humanos (Weindruch, 1996). Posteriormente, Mark Mattson encabezó, en 2005, la investigación sobre el potencial y los mecanismos moleculares por los que la RC aumenta la longevidad (Mattson, 2005). Sus investigaciones han estado evolucionando constantemente y han dado a conocer datos pioneros sobre el impacto de estas estrategias dietéticas en la salud en modelos animales y en seres humanos (Dorling et al., 2020). En estos últimos, ingerir una cantidad excesiva de energía se asocia con mayores tasas de enfermedades cardiovasculares, diabetes y ciertos tipos de cáncer. La RC, mediante mecanismos como la reducción del daño oxidativo o una mayor resistencia al estrés, como veremos más adelante, aumenta la esperanza de vida y pueden suprimir el desarrollo de varias enfermedades (Mattson, 2005).

Sin embargo, debido a la reducida adherencia derivada de la dificultad de llevar este tipo de dieta a largo plazo en humanos, en años posteriores, se empezaron a investigar otras dietas novedosas como el AI. El AI es un régimen dietético que ajusta la frecuencia y los tiempos de la ingesta de alimentos imponiendo periodos de restricción completa de la ingesta de calorías generalmente durante 12 horas o más (Dorling et al., 2020). En el AI, los periodos de ayuno pueden ser desde unas pocas horas del día hasta periodos prolongados de hasta dos días a la semana. Explicado brevemente, estos periodos prolongados de restricción energética producen un cambio metabólico en las células, que pasan de depender de la glucosa obtenida en las comidas, a la dependencia los lípidos acumulados en el organismo. Así, el ayuno eleva el metabolismo de los sustratos endógenos, como los cuerpos cetónicos, los ácidos grasos no

esterificados y glicerol, y estimulan procesos adaptativos que mejoran la composición corporal y la función fisiológica. A nivel celular, las mejoras en el funcionamiento fisiológico están mediadas por unas vías de señalización integradas que reducen la inflamación y el estrés oxidativo, por lo que mejoran la salud y la resistencia a enfermedades (Dorling et al., 2020).

Se han descrito varias estrategias de AI (**Figura 8**), pero todas se pueden clasificar en cuatro enfoques: ayuno en días alternos (ADA), ayuno modificado en días alternos (AMDA), ayuno periódico, del que se destaca el llamado AI 5:2 y la alimentación restringida en el tiempo (ART) (Dorling et al., 2020).



**Figura 8. Explicación de los diferentes tipos de intervenciones dietéticas relacionadas con el aumento de la longevidad.** En cada tipo de dieta, en azul se muestra la ventana en la que no hay restricción calórica y en rosa se muestran las ventanas de tiempo con restricción calórica o ayuno. CR= restricción calórica, ADF= ayuno en días alternos (ADA), ADMF= ayuno modificado en días alternos (AMDA), Periodic fasting= ayuno periódico (AI 5:2), TRE= alimentación restringida en el tiempo, CI= calorías consumidas. Obtenido de: (Hofer et al., 2022).

Actualmente, las investigaciones se centran en la estrategia 5:2, la cual permite comer cinco días *ad libitum* mientras que los otros dos días son de restricción energética severa o ayuno completo. Estos días de ayuno se pueden realizar de forma consecutiva o no. Esta estrategia 5:2 permite a las personas superar mejor los difíciles periodos de ayuno y por tanto conseguir una mayor adherencia (Dorling et al., 2020). Uno de los primeros estudios realizados por Harvie y colaboradores en 2013, consistió en comparar los efectos que el AI 5:2 o la RC podrían tener sobre 107 mujeres premenopáusicas con sobrepeso u obesidad en un periodo de 6 meses. El AI 5:2 mostró mayores beneficios ya que produjo mejorías significativas en parámetros relacionados con la resistencia a la insulina en comparación con la RC (Dorling et al., 2020).

Sin embargo, es cierto que no todos los estudios (Sundfør et al., 2018) realizados siguiendo esta estrategia han reportado los mismos beneficios. Por lo que es necesario seguir realizando más estudios para demostrar o desmentir si el AI 5:2 proporciona una mejoría considerable en los marcadores del envejecimiento cuando se compara con otros tipos de intervenciones dietéticas (Dorling et al., 2020).

Por último, otro de los enfoques novedosos ha sido la ART. Esta estrategia describe la restricción de la ingesta diaria de calorías a una ventana de tiempo consecutiva de 6-8h. La ART puede lograrse o bien omitiendo una comida específica (por ejemplo: desayuno o cena) o bien comprimiendo las comidas en una ventana de tiempo estrecha. En cualquiera de los casos, la ART se puede clasificar en temprana (evitar la cena, por ejemplo) y tardía (por ejemplo, evitar el desayuno) dependiendo de la primera comida consumida. En comparación con otras estrategias de AI, esta tiene ventanas de ayuno más cortas ya que tienen una mayor frecuencia de ciclos de ayuno-comida por lo que puede influir más profundamente en los ritmos circadianos (Hofer et al., 2022).

Así pues, una vez revisadas las diversas estrategias dietéticas que podrían contribuir a una mejora de la salud y a un aumento de la longevidad, pasaremos a describir los mecanismos moleculares implicados en estos procesos para poder comprender mejor cómo se relaciona la ingesta y el metabolismo con los procesos responsables del envejecimiento y por qué el reducir el contenido calórico u ingerirlo restringido a ciertas horas del día, puede contribuir a un retraso del envejecimiento.

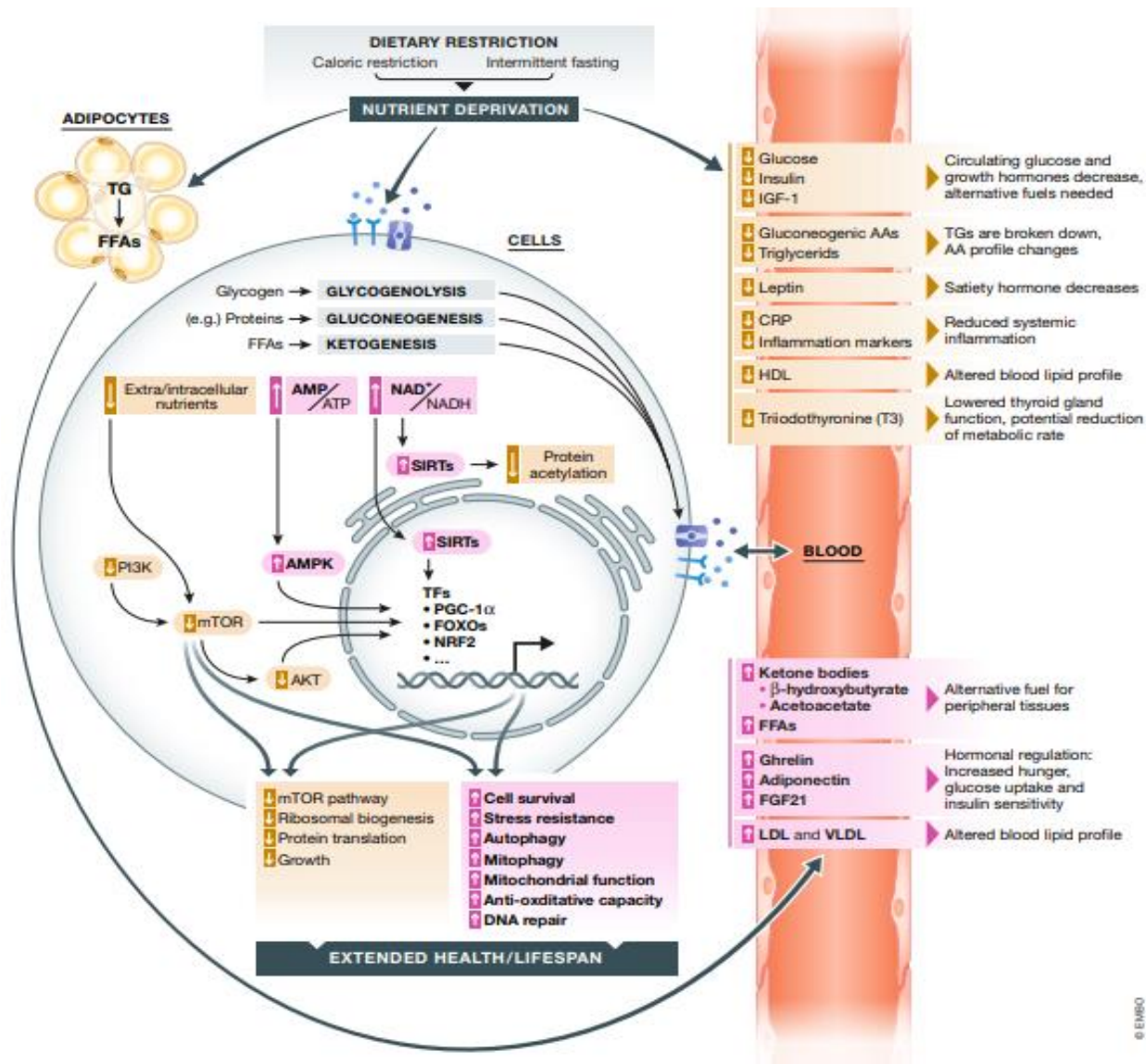
## **6. MECANISMOS MOLECULARES POR LOS QUE EL AYUNO INTERMITENTE Y LA RESTRICCIÓN CALÓRICA MEJORAN LA LONGEVIDAD.**

Una vez explicado con detalle cómo funcionan los ritmos circadianos, en qué consisten intervenciones dietéticas y las bases del envejecimiento, se procederá a explicar cuáles son los mecanismos moleculares por los que tanto el AI como la RC, incrementan la longevidad. En los apartados anteriores se explicó la relación que tenía el momento de la ingesta con los ritmos circadianos y los relojes periféricos y se concluyó que éste puede afectar positivamente (alineación) o negativamente (desalineación) al sistema circadiano. Así, cuando la alimentación no está alineada con el ciclo de sueño-vigilia, surgen descompensaciones metabólicas, conductuales y fisiológicas, como el aumento de peso corporal o la desregulación del metabolismo de la glucosa. Como hemos visto anteriormente, el AI y la RC son dietas que ayudan a mejorar la sincronización y alineación de la ingesta de alimentos con los ritmos

circadianos ya que, se ha comprobado que tanto el horario de alimentación como la cantidad de calorías, promueven el reseteo del NSQ (Mendoza, 2019). Resumiremos entonces los mecanismos moleculares claves que ocurren durante el AI y la RC y que contribuyen a una mejora de la salud y, en consecuencia, a un mejor envejecimiento (**Figura 9**).

Durante el AI y durante la RC, los macro y micronutrientes están menos disponibles para las células y los tejidos. Todas las células detectan su disponibilidad y reaccionan ante una mayor o menor disponibilidad de nutrientes a través de varias vías interconectadas, incluyendo las controladas por mTOR y AMPK. mTOR se activa de forma más destacada en respuesta a aminoácidos y factores de crecimiento. Por otro lado, AMPK se activa en condiciones de baja energía (mayor proporción de AMP con respecto a ATP), característico del AI y la RC, y estimula la cetogénesis, la oxidación de ácidos grasos, la absorción de glucosa y la inhibición de la lipogénesis en varios tipos de células (González et al., 2020). En consecuencia, la reducción de los niveles de glucosa o la disminución de la disponibilidad de proteínas y aminoácidos, como se induce a través de RC o el AI, conducen a la activación de la ruta AMPK y a la inhibición de la ruta AKT-mTOR (**Figura 9**), por lo que se reduce la síntesis de proteínas y la biogénesis ribosómica, y se activa la autofagia, que es un programa de reciclaje intracelular conservado que elimina proteínas y orgánulos disfuncionales. Como ya se mencionó más arriba, la actividad de este último proceso disminuye durante el envejecimiento y su desregulación contribuye a enfermedades neurodegenerativas y cáncer. Muchos efectos celulares y metabólicos del AI y la RC convergen en la inducción de la autofagia (Hofer et al., 2022).

Además, los niveles bajos de hidratos de carbono se traducen, a través de una disminución de insulina y del IGF-1, en la reducción de la señalización de fosfoinositol 3-quinasa (PI3K) y de la proteína quinasa (AKT) (**Figura 7** y **Figura 9**). Dentro de los mecanismos que se inducen para hacer frente al estrés nutricional, podemos encontrar procesos como la reparación del ADN, la autofagia, la mitofagia y la defensa contra el estrés oxidativo, entre otros (**Figura 9**). Así, las alteraciones celulares provocadas por el agotamiento periódico de nutrientes mejoran la supervivencia celular, reducen la senescencia celular, mejoran la función de los órganos, contrarresta el deterioro asociado con la edad, disminuyen los problemas sistémicos, como la inflamación crónica, y en consecuencia prolonga la vida y la homeostasis fisiológica (Hofer et al., 2022).



**Figura 9. Eventos moleculares claves durante el AI y la RC a niveles celulares y metabólicos.** Este esquema representa todas las vías por las que ambas restricciones dietéticas mejoran la salud. La RC y el AI actúan en múltiples niveles, mejorando la resistencia del organismo y proporcionándole diversos beneficios que mejorarán y prolongarán la esperanza de vida. Obtenido de: (Hofer et al., 2022).

Finalmente, los procesos celulares relacionados con el AI y la RC están regulados por una red de factores de transcripción. Entre ellos encontramos FOXO1, que regula la gluconeogénesis, la glucogenólisis y el ciclo celular, así como el factor sensible al estado oxidativo NRF2, que activa un innumerable conjunto de genes citoprotectores. Tanto el AI como la RC, activan también a las SIRT6, que son histonas desacetilasas dependientes de NAD<sup>+</sup> con múltiples dianas tanto dentro como fuera del núcleo celular y cuya actividad está estrechamente ligada al estado energético de la célula. Obsérvese en la **figura 9** el gran número de genes inducidos por estos factores de transcripción que contribuyen a la supervivencia



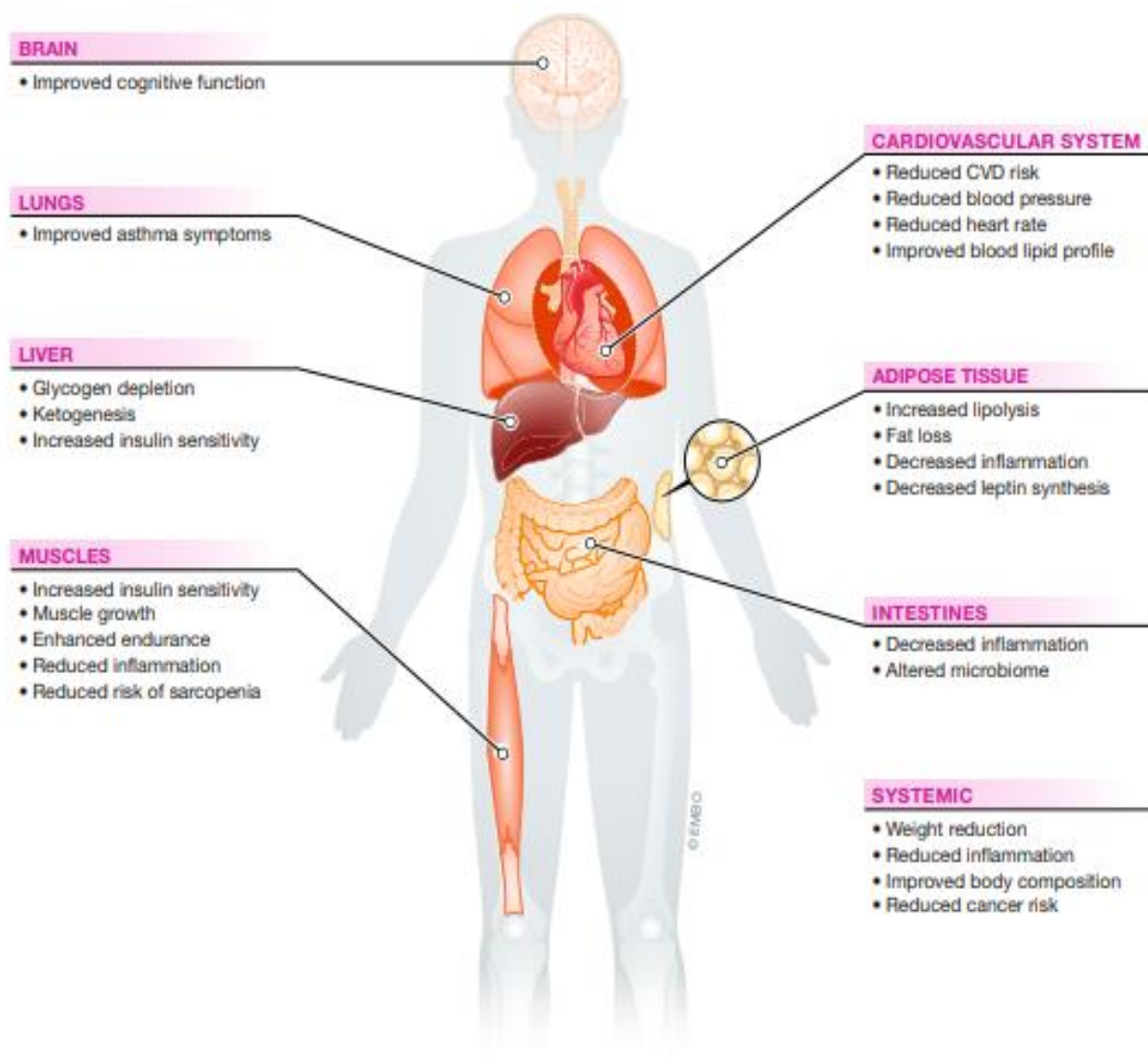
celular, a la resistencia al estrés, a la mejoría de la función mitocondrial o la reparación del ADN entre otros.

## 7. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Como se ha visto en este trabajo, los distintos mecanismos activados por el AI y la RC modifican el metabolismo para mejorar las vías que promueven la longevidad. Esto ocurre porque tanto el AI como la RC promueven la inducción de rutas “antienvjecimiento” y contribuyen a que el metabolismo se alinee con los ritmos circadianos. Es importante destacar una vez más, que un desalineamiento, por ejemplo, por *jet lag*, trabajos por turnos nocturnos o comer durante las horas que corresponden con el sueño, es perjudicial para la salud, y aumentan el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes tipo 2, enfermedades neurodegenerativas e incluso cáncer (Hofer et al., 2022; Mendoza, 2019). Se ha comprobado que el momento de la ingesta de alimentos en relación con el aumento natural de la melatonina esta significativamente asociado con el porcentaje de grasa y el índice de masa corporal. Por ello, la implementación de un horario de alimentación restringido en el tiempo, así como de un consumo menor de calorías, disminuye la grasa corporal, los niveles de glucosa e insulina, la resistencia a esta última y la inflamación. La suma de las alteraciones metabólicas, transcripcionales y proteómicas que son provocadas por la RC y el AI, dan como resultado una mayor resistencia al estrés, una mejor reparación celular y del ADN, inducción de autofagia y función mitocondrial mejorada (Hofer et al., 2022). Como resultado, estas alteraciones pueden afectar varios aspectos de la salud celular y del organismo que conducen a una mejor salud. En la **figura 10**, están resumidos todos los beneficios asociados tanto a la RC como al AI en los distintos órganos. Si bien es cierto que estos efectos son sorprendentes y que su posible aplicación como terapia en enfermedades relacionadas con desórdenes metabólicos como la obesidad y diabetes y otras enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares o autoinmunes, podrían ofrecer muy buenos resultados (Hofer et al., 2022), quedan muchas investigaciones por realizar y esclarecer datos que aún se desconocen. Aunque como hemos mencionado durante el trabajo, hay numerosas investigaciones que han dado muy buenos resultados en animales de laboratorio (como ejemplo ver **figura 3b** de Acosta-Rodríguez et al., 2021), es cierto que, es necesario realizar ensayos más largos en humanos para poder evaluar con exactitud los beneficios y la seguridad de ambas restricciones dietéticas. También debemos destacar que la RC y el AI pueden tener efectos secundarios adversos y por tanto que no está recomendado en ciertas condiciones como personas de muy avanzada edad, embarazadas,

personas que sufren algún trastorno alimenticio o para grupos de enfermedades especiales. Algunos de estos posibles efectos adversos son: el hambre y trastornos mentales asociados cuando la RC provoca malnutrición severa, una pérdida de masa muscular, pérdida severa de peso o densidad ósea, y un posible efecto rebote y ganancia excesiva de peso tras la RC prolongada. Sin embargo, aunque sigue siendo difícil generalizar los resultados, todos estos inconvenientes son relativamente pequeños para la mayoría de las personas, sobre todo si se comparan con los grandes beneficios que para ellos podría suponer (Hofer et al., 2022).

En general, tras todo lo visto en el trabajo, sería necesario transmitir a la sociedad la importancia de estar sincronizados con nuestros ritmos circadianos y respetar los horarios de sueño e ingesta de alimentos para poder así fomentar un envejecimiento más saludable.



**Figura 10. Beneficios producidos por la RC y el AI en los distintos órganos humanos afectados por estas intervenciones dietéticas.** La RC y el AI contribuyen a una mayor longevidad a través de una mejora en la fisiología de los distintos órganos del organismo. En el cerebro: mejora la función cognitiva, en los pulmones: mejora los síntomas de asma, en el hígado: incrementa la sensibilidad a la insulina, agota el glucógeno (disminuye la glucosa en sangre) y ayuda a realizar la cetogénesis. Con respecto al músculo, incrementa la sensibilidad a la insulina, ayuda a aumentar la masa muscular, mejora la resistencia y reduce tanto la inflamación como el riesgo de sarcopenia. En cuanto al sistema cardiovascular reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular, reduce la presión sanguínea y el ritmo cardiaco y mejora el perfil lipídico en sangre. En relación con el tejido adiposo, se incrementa la lipólisis, la pérdida de grasa corporal, se disminuye la inflamación y la síntesis de leptina. En los intestinos disminuye la inflamación y se altera la microbiota. Por último, a nivel sistémico, hay una pérdida de peso, se reduce la inflamación, se mejora la composición corporal y se reduce el riesgo de cáncer. Obtenido de: (Hofer et al., 2022).

## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Rodríguez, V. A., Rijo-Ferreira, F., Green, C. B., & Takahashi, J. S. (2021). Importance of circadian timing for aging and longevity. In *Nature Communications* (Vol. 12, Issue 1). Nature Research. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22922-6>
- Astiz, M., Heyde, I., & Oster, H. (2019). Mechanisms of communication in the Mammalian Circadian timing system. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 20, Issue 2). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms20020343>
- Brown, S. A., & Azzi, A. (2013). Peripheral circadian oscillators in mammals. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 217, 45–66. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-25950-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-642-25950-0_3)
- de Araujo, L. D., Roa, S. L., Bueno, A. C., Coeli-Lacchini, F. B., Martins, C. S., Uchoa, E. T., Antunes-Rodrigues, J., Elias, L. L., Elias, P. C., Moreira, A. C., & de Castro, M. (2016). Restricted feeding schedules modulate in a different manner the expression of clock genes in rat hypothalamic nuclei. *Frontiers in Neuroscience*, 10(DEC). <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00567>
- de Assis, L. V. M., & Oster, H. (2021). The circadian clock and metabolic homeostasis: entangled networks. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 78(10), 4563–4587. <https://doi.org/10.1007/s00018-021-03800-2>
- Dibner, C., Schibler, U., & Albrecht, U. (2009). The mammalian circadian timing system: Organization and coordination of central and peripheral clocks. In *Annual Review of Physiology* (Vol. 72, pp. 517–549). <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135821>
- Dorling, J. L., Martin, C. K., & Redman, L. M. (2020). Calorie restriction for enhanced longevity: The role of novel dietary strategies in the present obesogenic environment. In *Ageing Research Reviews* (Vol. 64). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101038>
- Flanagan, E. W., Most, J., Mey, J. T., & Redman, L. M. (2020). *Annual Review of Nutrition Calorie Restriction and Aging in Humans*. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-12231>.
- Garaulet, M., & Madrid, J. A. (2009). Chronobiology, genetics and metabolic syndrome. *Current Opinion in Lipidology*, 20(2), 127–134. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3283292399>
- Gill, S., & Panda, S. (2015). A Smartphone App Reveals Erratic Diurnal Eating Patterns in Humans that Can Be Modulated for Health Benefits. *Cell Metabolism*, 22(5), 789–798. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.09.005>
- González, A., Hall, M. N., Lin, S. C., & Hardie, D. G. (2020). AMPK and TOR: The Yin and Yang of Cellular Nutrient Sensing and Growth Control. In *Cell Metabolism* (Vol. 31, Issue 3, pp. 472–492). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.01.015>

- Golombek, D. A., & Rosenstein, R. E. (2010). Physiology of Circadian Entrainment. *Physiological Reviews*, 90(3), 1063–1102. <https://doi.org/10.1152/physrev.00009.2009>
- Guadarrama-Ortiz, P., Ramírez-Aguilar, R., Madrid-Sánchez, A., Castillo-Rangel, C., Carrasco-Alcántara, D., & Aguilar-Roblero, R. (2014). Controladores del Tiempo y el Envejecimiento: Núcleo Supraquiasmático y Glándula Pineal. *International Journal of Morphology*, 32(2), 409–414. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022014000200004>
- Hall, J. C., Rosbash, M., & Young, M. W. (2017). *The Nobel Assembly at Karolinska Institutet has today decided to award the 2017 Nobel Prize in Physiology or Medicine jointly to.* <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2017/press-release/>
- Harvie, M., Wright, C., Pegington, M., McMullan, D., Mitchell, E., Martin, B., Cutler, R. G., Evans, G., Whiteside, S., Maudsley, S., Camandola, S., Wang, R., Carlson, O. D., Egan, J. M., Mattson, M. P., & Howell, A. (2013). The effect of intermittent energy and carbohydrate restriction v. daily energy restriction on weight loss and metabolic disease risk markers in overweight women. *British Journal of Nutrition*, 110(8), 1534–1547. <https://doi.org/10.1017/S0007114513000792>
- Hattar, S., Liao, H. W., Takao, M., Berson, D. M., Yau, K. W., Panda, S., Sato, T. K., Maria Castrucci, A., Rollag, M. D., DeGrip, W. J., Hogenesch, J. B., Provencio, I., & Kay, S. A. (1998). Melanopsin (Opn4) Requirement for Normal Light-Induced Circadian Phase Shifting. In *13. J. Aschoff, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol* (Vol. 395). [www.sciencemag.org/cgi/content/full/298/5601/2211/](http://www.sciencemag.org/cgi/content/full/298/5601/2211/)
- Hekimi, S., Lapointe, J., & Wen, Y. (2011). Taking a “good” look at free radicals in the aging process. In *Trends in Cell Biology* (Vol. 21, Issue 10, pp. 569–576). <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2011.06.008>
- Hernández-Rosas, F., & Santiago-García, J. (2010). Ritmos circadianos, genes reloj y cáncer. *Archivos de Medicina*, 6(2). <https://doi.org/10.3823/059>
- Hernández Ruiz de Eguilaz, María et al. “Multisensory influence on eating behavior: Hedonic consumption.” “Influencia multisensorial sobre la conducta alimentaria: ingesta hedónica.” *Endocrinología, diabetes y nutrición* vol. 65,2 (2018): 114-125. <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2017.09.008>
- Herranz, D., Muñoz-Martin, M., Cañamero, M., Mulero, F., Martinez-Pastor, B., Fernandez-Capetillo, O., & Serrano, M. (2010). Sirt1 improves healthy ageing and protects from metabolic syndrome-associated cancer. *Nature Communications*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms1001>
- Hofer, S. J., Carmona-Gutierrez, D., Mueller, M. I., & Madeo, F. (2022). The ups and downs of caloric restriction and fasting: from molecular effects to clinical application. *EMBO Molecular Medicine*, 14(1). <https://doi.org/10.15252/emmm.202114418>
- Husse, J., Eichele, G., & Oster, H. (2015). Synchronization of the mammalian circadian timing system: Light can control peripheral clocks independently of the SCN clock:

- Alternate routes of entrainment optimize the alignment of the body's circadian clock network with external time. *BioEssays*, 37(10), 1119–1128. <https://doi.org/10.1002/bies.201500026>
- Johnson, S. C., Rabinovitch, P. S., & Kaeberlein, M. (2013). mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. In *Nature* (Vol. 493, Issue 7432, pp. 338–345). <https://doi.org/10.1038/nature11861>
- Ko, M. L., Shi, L., Tsai, J. Y., Young, M. E., Neuendorff, N., Earnest, D. J., & Ko, G. Y. P. (2011). Cardiac-specific mutation of clock alters the quantitative measurements of physical activities without changing behavioral circadian rhythms. *Journal of Biological Rhythms*, 26(5), 412–422. <https://doi.org/10.1177/0748730411414170>
- Landgraf, D., Long, J. E., Proulx, C. D., Barandas, R., Malinow, R., & Welsh, D. K. (2016). Genetic Disruption of Circadian Rhythms in the Suprachiasmatic Nucleus Causes Helplessness, Behavioral Despair, and Anxiety-like Behavior in Mice. *Biological Psychiatry*, 80(11), 827–835. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.03.1050>
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. In *Cell* (Vol. 153, Issue 6, p. 1194). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- Madrid, J. A., Pin Arboledas, G., & Ferrández Gomariz, M. C. (2018). Organización funcional del sistema circadiano humano. Desarrollo del ritmo circadiano en el niño. Alteraciones del ritmo vigilia-sueño. Síndrome de retraso de fase. *PEDIATRÍA INTEGRAL*, XXII(8), 385–395. <https://www.pediatriaintegral.es/publicacion-2018-12/organizacion-funcional-del-sistema-circadiano-humano-desarrollo-del-ritmo-circadiano-en-el-nino-alteraciones-del-ritmo-vigilia-sueno-sindrome-de-retraso-de-fase/>
- Marcheva, B., Ramsey, K. M., Buhr, E. D., Kobayashi, Y., Su, H., Ko, C. H., Ivanova, G., Omura, C., Mo, S., Vitaterna, M. H., Lopez, J. P., Philipson, L. H., Bradfield, C. A., Crosby, S. D., Jebailey, L., Wang, X., Takahashi, J. S., & Bass, J. (2010). Disruption of the clock components CLOCK and BMAL1 leads to hypoinsulinaemia and diabetes. *Nature*, 466(7306), 627–631. <https://doi.org/10.1038/nature09253>
- Mattson, M. P. (2005). Energy intake, meal frequency, and health: A neurobiological perspective. In *Annual Review of Nutrition* (Vol. 25, pp. 237–260). <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.25.050304.092526>
- Mendoza, J., Graff, C., Dardente, H., Pevet, P., & Challet, E. (2005). Feeding cues alter clock gene oscillations and photic responses in the suprachiasmatic nuclei of mice exposed to a light/dark cycle. *Journal of Neuroscience*, 25(6), 1514–1522. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4397-04.2005>
- Mendoza, J. (2019). Eating Rewards the Gears of the Clock. In *Trends in Endocrinology and Metabolism* (Vol. 30, Issue 5, pp. 299–311). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2019.03.001>

- Onken, B., & Driscoll, M. (2010). Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* healthspan via AMPK, LKB1, and SKN-1. *PLoS ONE*, 5(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008758>
- Pilorz, V., Helfrich-Förster, C., & Oster, H. (2018). The role of the circadian clock system in physiology. In *Pflugers Archiv European Journal of Physiology* (Vol. 470, Issue 2, pp. 227–239). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00424-017-2103-y>
- Poggiogalle, E., Jamshed, H., & Peterson, C. M. (2018). Circadian regulation of glucose, lipid, and energy metabolism in humans. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 84, 11–27. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.11.017>
- Purnell, B. S., & Buchanan, G. F. (2020). Free-running circadian breathing rhythms are eliminated by suprachiasmatic nucleus lesion. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 129(1), 49–57. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00211.2020>
- Provencio, I., Jiang, G., de Grip, W. J., Hayes, W. P., & Rollag, M. D. (1998). Melanopsin: An opsin in melanophores, brain, and eye. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(1), 340–345. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.1.340>
- Reppert, S. M., & Weaver, D. R. (2002). Coordination of circadian timing in mammals. *Nature*, 418(6901), 935–941. <https://doi.org/10.1038/nature00965>
- Shimizu, K., & Fukada, Y. (2017). Stereotaxic Surgery for Suprachiasmatic Nucleus Lesions in Mice. *BIO-PROTOCOL*, 7(12). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.2346>
- Sundfør, T. M., Svendsen, M., & Tonstad, S. (2018). Effect of intermittent versus continuous energy restriction on weight loss, maintenance and cardiometabolic risk: A randomized 1-year trial. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 28(7), 698–706. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2018.03.009>
- Sutton, E. F., Beyl, R., Early, K. S., Cefalu, W. T., Ravussin, E., & Peterson, C. M. (2018). Early Time-Restricted Feeding Improves Insulin Sensitivity, Blood Pressure, and Oxidative Stress Even without Weight Loss in Men with Prediabetes. *Cell Metabolism*, 27(6), 1212-1221.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.04.010>
- Tahara, Y., & Shibata, S. (2018). Entrainment of the mouse circadian clock: Effects of stress, exercise, and nutrition. In *Free Radical Biology and Medicine* (Vol. 119, pp. 129–138). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.026>
- The BioClock Studio. Circadian Clock-Controlled Genes Part 1: Transcriptional regulation. [Archivo de video]. (14 de Septiembre de 2020). Recuperado de <https://www.youtube.com/channel/UCtoACN4wH06iJLRRXo0i>
- The BioClock Studio. The Food Entrainable Oscillator. [Archivo de video]. (18 de Agosto de 2020). Recuperado de [https://www.youtube.com/watch?v=FVnVnNW1PBc&ab\\_channel=TheBioClockStudio](https://www.youtube.com/watch?v=FVnVnNW1PBc&ab_channel=TheBioClockStudio)

- The BioClock Studio. Circadian Clock-Controlled Genes Part 2: Interaction Between the Clock and Metabolism. [Archivo de video]. (14 de Septiembre de 2020). Recuperado de [https://www.youtube.com/watch?v=SQ6Pqyd0W08&ab\\_channel=TheBioClockStudio](https://www.youtube.com/watch?v=SQ6Pqyd0W08&ab_channel=TheBioClockStudio)
- Vetter, C., & Scheer, F. A. J. L. (2017). Circadian Biology: Uncoupling Human Body Clocks by Food Timing. In *Current Biology* (Vol. 27, Issue 13, pp. R656–R658). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.05.057>
- 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>
- Welsh, D. K., Logothetis, D. E., Meister, M., & Reppert, S. M. (1995). Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron*, 14(4), 697–706. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90214-7](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90214-7)
- West, A. C., & Bechtold, D. A. (2015). The cost of circadian desynchrony: Evidence, insights and open questions. *BioEssays*, 37(7), 777–788. <https://doi.org/10.1002/bies.201400173>