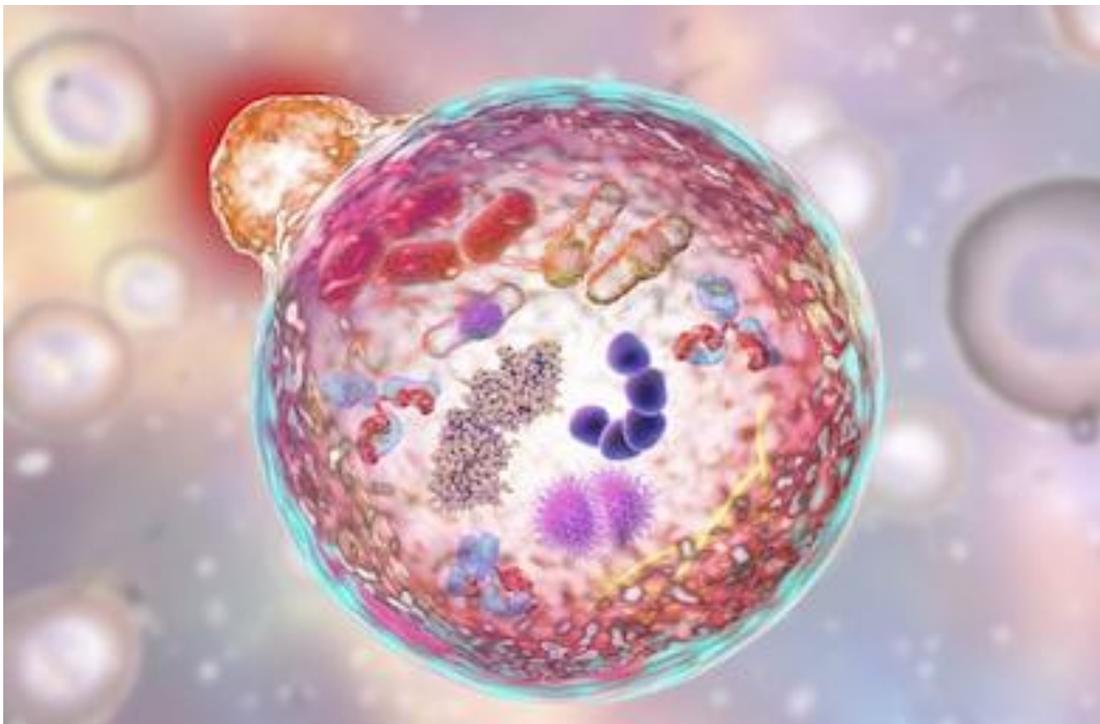




**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**Facultad de Farmacia**

## **RECICLAJE CELULAR Y ENVEJECIMIENTO**



**Ángela Peralbo Calero**





**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**Facultad de Farmacia**

**Trabajo Fin de Grado**

**Grado en Farmacia**

## **RECICLAJE CELULAR Y ENVEJECIMIENTO**

**Ángela Peralbo Calero**

**Sevilla, Junio de 2019**

**Departamento de Fisiología**

**Sandro Argüelles Castilla**

**Revisión bibliográfica**

Fdo. Tutor: Sandro Argüelles Castilla



## **RESUMEN:**

El envejecimiento es un proceso biológico que depende en gran medida de la genética, aunque, también se ve determinado por el entorno físico y social que le rodea. Este proceso no solo conlleva un deterioro físico sino que también lleva asociado un deterioro de las funciones fisiológicas y cognitivas. Desde el punto de vista celular el envejecimiento se caracteriza por el mal funcionamiento de algunos procesos biológicos tales como la autofagia lo que favorece la pérdida de homeostasis. La autofagia es un proceso intracelular que con el objetivo de restaurar la homeostasis celular, permite la degradación de orgánulos dañados, de proteínas intracitoplasmáticas propensas a los agregados que dan lugar a enfermedades como son Alzheimer, Parkinson o Huntington y de ciertas bacterias y virus lo que le confiere un carácter protector frente a algunas enfermedades infecciosas. El proceso de la autofagia se desarrolla en diferentes pasos entre los que se encuentran (i) la inducción, (ii) nucleación de doble membrana y formación del autofagosoma, (iii) elongación del autofagosoma y secuestro de restos celulares, (iv) fusión del autofagosoma con el lisosoma y finalmente (v) degradación de los componentes secuestrados en el lisosoma. Algunas de las distintas formas de autofagia son microautofagia, macroautofagia y autofagia mediada por chaperonas (CMA) que se distinguen entre sí en el proceso de degradación. Como la estimulación de la autofagia puede jugar un papel importante en el control del envejecimiento, se podría utilizar para el tratamiento de enfermedades relacionadas con la edad como son Alzheimer, Parkinson o Huntington entre otras. De hecho, tanto para el control del envejecimiento como para la prevención y el tratamiento de trastornos neurodegenerativos se están estudiando estimuladores de la autofagia tales como la rapamicina, cúrcuma, resveratrol, metformina, espermidina y sulforafano.

**Palabras clave:** autofagia, envejecimiento, rapamicina, metformina, resveratrol

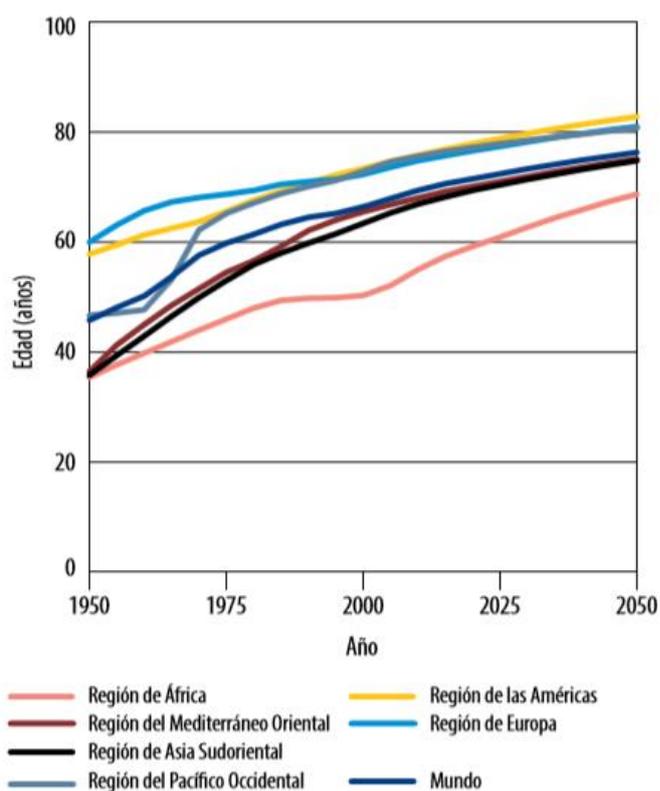
## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN .....	1
2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN .....	2
2.1. Objetivo general .....	2
2.2. Objetivos específicos .....	2
3. METODOLOGÍA .....	2
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	3
4.1 Autofagia .....	3
4.1.1. Definición de autofagia .....	3
4.1.2. Tipos de autofagia .....	6
4.1.3. Importancia de la autofagia .....	6
4.2 Estados y patología asociada a la disminución de la autofagia .....	7
4.2.1. Envejecimiento .....	8
4.2.2. Enfermedades relacionadas con la edad .....	9
4.2.3. Terapias farmacológicas y no farmacológicas para el control del envejecimiento .....	10
4.3 Estimuladores de la autofagia .....	12
4.3.1. Rapamicina .....	12
4.3.2. Resveratrol .....	14
4.3.3. Metformina .....	16
4.3.4. Cúrcuma .....	17
4.3.5. Espermidina .....	19
4.3.6. Sulforafano .....	20
4.3.7. Otros .....	21
5. CONCLUSIONES .....	22
6. BIBLIOGRAFÍA .....	23

## 1. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es el deterioro progresivo no solo de procesos fisiológicos sino también de los biológicos, se caracteriza por la acumulación de daño molecular provocando la pérdida de homeostasis (da Costa et al., 2016). Además representa un factor de riesgo importante en cuanto a la susceptibilidad a enfermedades como el cáncer, la neurodegeneración (Alzheimer, Parkinson y Huntington), los trastornos cardiovasculares así como el síndrome metabólico (Zimmermann et al., 2018). Por lo tanto, el estudio del envejecimiento es muy importante ya que puede ser una medida preventiva que mejoraría las enfermedades relacionadas con la edad (Zimmermann et al., 2018).

A nivel molecular uno de los mecanismos responsables del desarrollo del envejecimiento es la autofagia, encargada de la eliminación de componentes celulares dañados (Madeo et al., 2015). De hecho, el envejecimiento está asociado con una autofagia insuficiente (Rubinsztein et al., 2011). El envejecimiento en España actualmente presenta un desafío para la política pública, ya que hay que gestionar las necesidades sanitarias y sociales de una población cada vez más numerosa en el contexto de un sistema sanitario financiado con fondos públicos y en tiempos económicos difíciles (Rodríguez-Laso et al., 2018). En cuanto a la variación de la esperanza de vida en distintas regiones del mundo con respecto al paso del tiempo se puede observar en la figura 1.



**Figura 1. Cambios en la esperanza de vida a partir de 1950, con proyecciones hasta el año 2050, por región de la OMS y en todo el mundo.** En general en todas las regiones se observa un aumento en la esperanza de vida, sin embargo, este incremento no es igual en todo el mundo. La esperanza de vida en países desarrollados aumenta más rápidamente que en países subdesarrollados (OMS, 2015).

Esta revisión se ha centrado en el conocimiento del reciclaje celular o autofagia y como éste influye en el envejecimiento. Los principales temas a tratar son algunas generalidades de la autofagia, el efecto patológico asociado a la disminución de la autofagia y el tratamiento con estimuladores de la autofagia tales como la rapamicina, resveratrol, metformina, cúrcuma, espermidina y sulforafano.

## **2. OBJETIVOS DE LA REVISIÓN**

### **2.1 Objetivo general**

El objetivo general de este trabajo consiste en dar una visión general sobre el reciclaje celular, o lo que es lo mismo la autofagia, y como este proceso está relacionado con el envejecimiento.

### **2.2 Objetivos específicos**

Los objetivos específicos son los siguientes:

- Describir de forma general la autofagia y su clasificación
- Señalar las principales funciones de la autofagia
- Dar a conocer el efecto patológico de la disminución de la autofagia
- Detallar el tratamiento con estimuladores de la autofagia

## **3. METODOLOGÍA**

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en distintas bases de datos tales como PubMed, Scopus, MedlinePlus y Dialnet Plus. La búsqueda se limitó a los últimos diez años (2009-2019) y se han utilizado para ello palabras clave como autophagy, aging, rapamycin, curcumin, resveratrol, metformin, spermidine y sulforaphane.

La primera selección de artículos ha sido en base a aquellos títulos que más se aproximan al contenido de dicha revisión, luego una segunda selección se hizo en base a sus resúmenes y finalmente se incluyeron en el trabajo los más relevantes después de leer el texto completo. La búsqueda se restringió a artículos en inglés o español. Además de las ya mencionadas bases de datos también se han consultado varios libros para tener una idea general del tema.

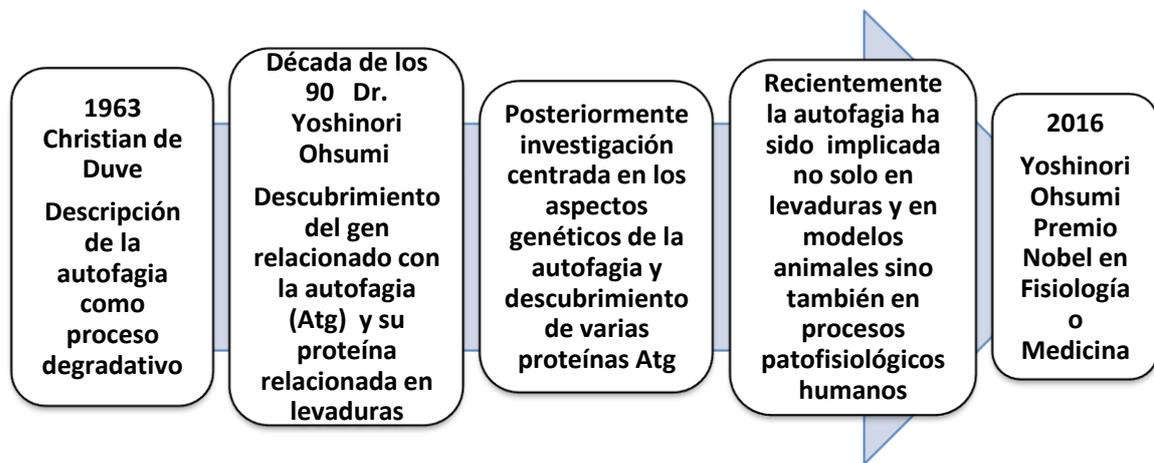
## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Autofagia

#### 4.1.1. Definición de autofagia

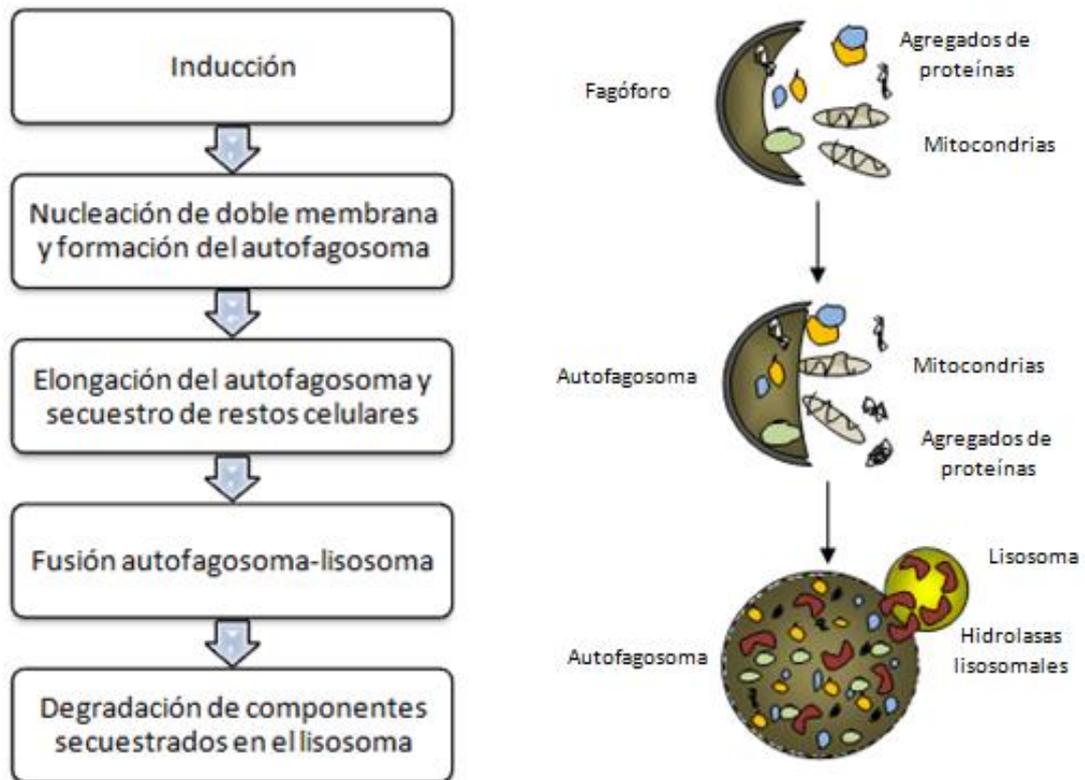
La autofagia es un proceso beneficioso ya que permite que los orgánulos y macromoléculas dañados se degraden y reciclen dentro de la célula (Lapierre et al., 2015). Sin embargo, este proceso puede desencadenar la muerte celular en el contexto de una pérdida excesiva de proteínas (Chen et al., 2019). La autofagia se da en sistemas que van desde organismos unicelulares como las levaduras hasta sistemas complejos como son moscas, gusanos y mamíferos (Martinez-Lopez et al., 2015).

Algunos hechos históricos relevantes de la autofagia se resumen en la figura 2



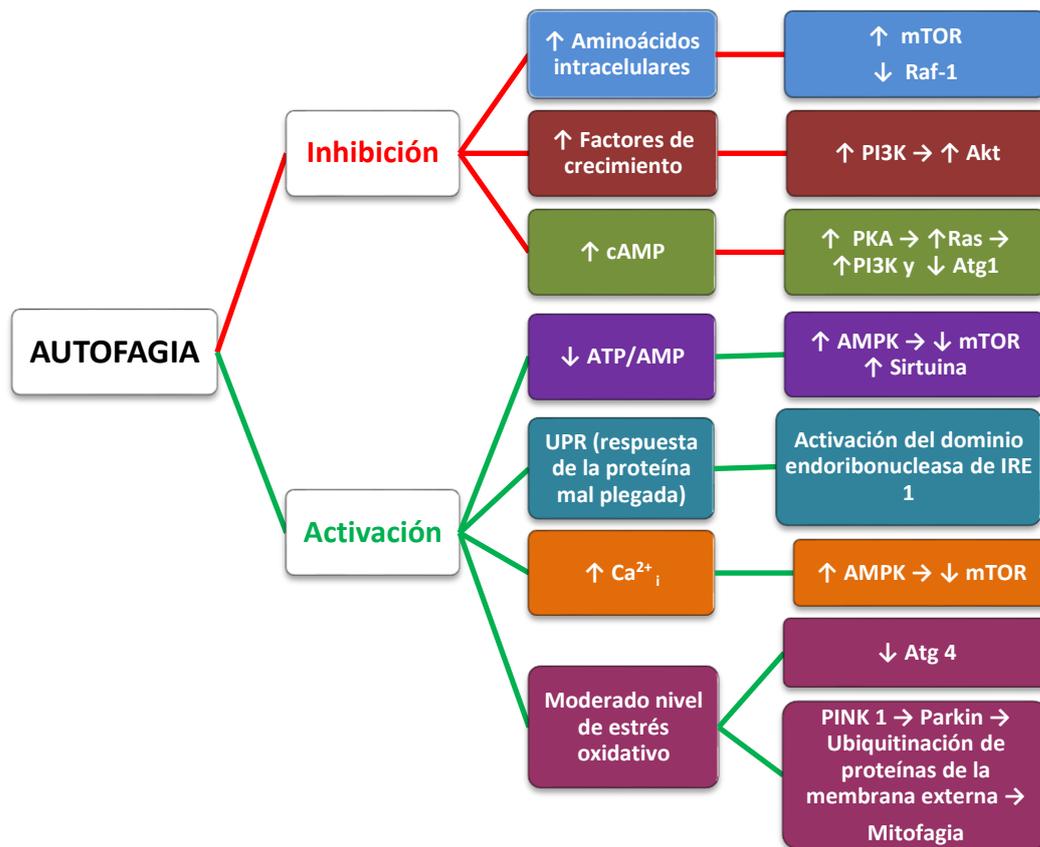
*Figura 2. Línea cronológica de la autofagia* (Lin et al., 2016).

La autofagia es un proceso predominantemente citoprotector (en vez de autodestructivo). En consecuencia, puede mediar efectos beneficiosos en múltiples modelos de roedores con daño en algunos órganos tales como el hígado, corazón, sistema nervioso y riñón entre otros (Rubinsztein et al., 2011). Por otro lado, en situaciones estresantes como es el déficit calórico o el daño funcional se induce una respuesta autofágica adaptada para restaurar la homeostasis celular. Esta respuesta proporciona a la célula nutrientes y energía durante la escasez metabólica y la libera de componentes tóxicos durante el daño funcional (Madeo et al., 2015; Plaza-Zabala et al., 2017). El proceso de autofagia avanza a través de al menos 5 pasos distintos desde el punto de vista mecánico (Lapierre et al., 2015) (Figura 3).



**Figura 3. Etapas de la autofagia.** El proceso de la autofagia se inicia con la inducción tras lo que se desarrolla la nucleación citoplásmica del fagóforo con estructuras de membrana doble. El fagóforo luego se alarga y secuestra los componentes celulares hasta que madura en un autofagosoma, que posteriormente se acopla y se fusiona con los lisosomas para formar un autofagosoma-lisosoma. Tras la fusión, la carga y la membrana interna del autofagosoma-lisosoma se degradan (Lapierre et al., 2015).

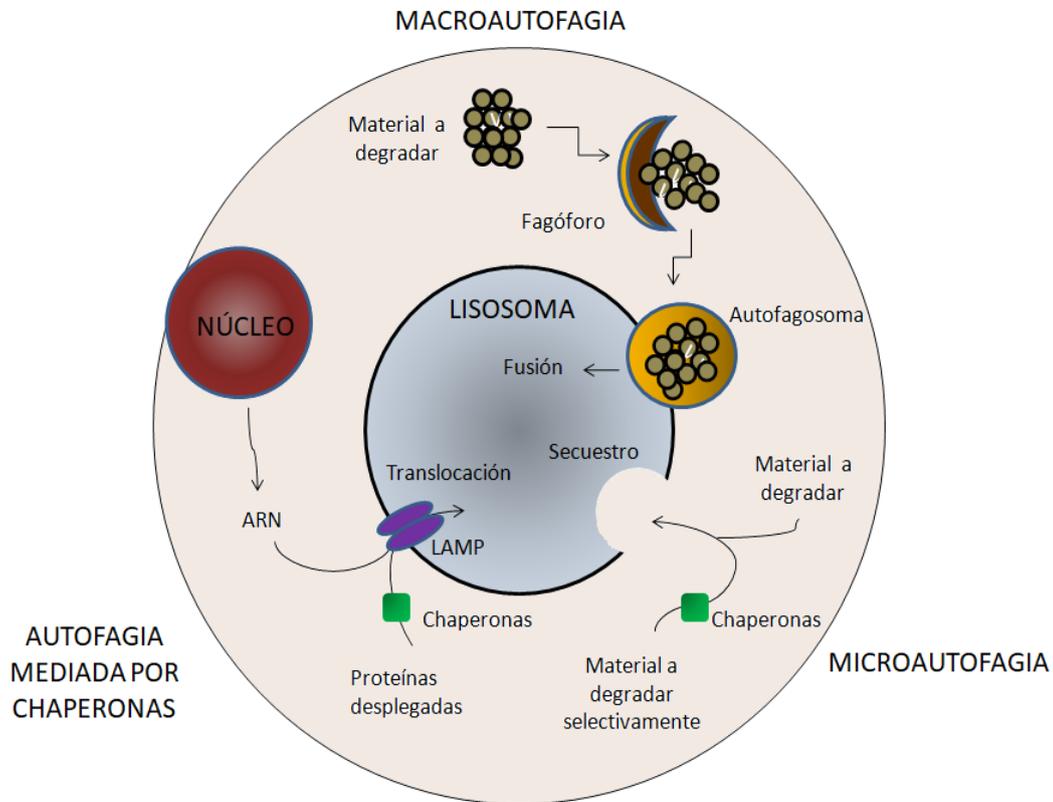
Interesantemente, la reducción de la autofagia se ha asociado con el envejecimiento acelerado, mientras que su estimulación podría producir un envejecimiento saludable (Rubinsztein et al., 2011). De hecho, se ha demostrado que la autofagia desempeña un papel importante tanto en el proceso del envejecimiento como en una serie de enfermedades relacionadas con la edad por ejemplo las enfermedades neurodegenerativas, cáncer, enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico, obesidad además de infecciones, etc (Linton et al., 2015). En la figura 4 se resumen algunos de los factores que intervienen en la regulación de la autofagia.



**Figura 4. Regulación de la autofagia.** Por un lado se da la inhibición de la autofagia mediada por el aumento de aminoácidos al inducir la señalización de mTOR (diana de la rapamicina en células de mamíferos), además, se encargan de reducir la señalización del gen Raf-1, los factores de crecimiento aumentan la actividad de PI3K (fosfoinositol 3-quinasa) de clase I encargado de activar a su vez al PIP3 (fosfatidil inositol 3,4,5 trifosfato) que conduce a la activación de la proteína Akt (proteína serina-treoninacinasas) y el cAMP activa PKA (proteína quinasa A) lo que causa la activación del Ras (proteína GTPasas), éste causa la fosforilación y desactivación de Atg1 así como la activación de PI3K que desencadena en la inhibición de la autofagia. Por otro lado se da la activación de la autofagia mediante la disminución de la relación ATP/AMP que provoca la activación de AMPK (proteína quinasa activada por AMP) que induce la autofagia a través de la inactivación de TSC1/2 (complejo de proteínas de esclerosis tuberosa 1 y 2), UPR produce la activación de IRE1 (proteína transmembrana del retículo endoplasmático), los iones de calcio están almacenados en el retículo endoplasmático y pueden desplazarse al citoplasma por una serie de canales, el aumento de calcio citoplasmático inhibe mTOR a través de la activación de la vía AMPK y niveles moderados de estrés oxidativo puede interrumpir Atg4 (proteasa encargada de regular la autofagia) lo que hace que aumente la autofagia, por otro lado, PINK1 (proteína quinasa inducida por PTEN) recluta a Parkin lo que causa la ubiquitina de algunas proteínas de la membrana externa de la mitocondria induciendo su atracción por el autofagosoma, se produce la ubiquitinación de proteínas de la membrana externa que finaliza con la estimulación de la mitofagia. Figura modificada de (Moloudizargari et al., 2017).

#### 4.1.2. Tipos de autofagia

Algunas formas de autofagia en mamíferos incluyen: macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperonas (CMA) (Martinez-Lopez et al., 2015) (Figura 5).



**Figura 5. Diferentes tipos de autofagia.** Macroautofagia: el material a degradar se secuestra en vesículas de doble membrana llamadas autofagosomas antes de su fusión con el lisosoma. Autofagia mediada por chaperonas (CMA): el material dañado o las proteínas mal plegadas se trasladan a la luz lisosomal, la translocación está mediada por la proteína de membrana asociada al lisosoma (LAMP). Microautofagia: el material a degradar está directamente envuelto por lisosomas a través de la invaginación de su membrana (González-polo et al., 2015).

La macroautofagia es la primera línea de defensa durante el estrés celular, por ejemplo durante la inanición o el estrés oxidativo; sin embargo, cuando el daño persiste más allá de seis a ocho horas, la inducción de CMA asegura la homeostasis celular mediante la eliminación selectiva de proteínas dañadas (Martinez-Lopez et al., 2015).

#### 4.1.3. Importancia de la autofagia

La autofagia desempeña un papel importante en la homeostasis de proteínas (proteostasis) y recambio de orgánulos. Este papel es particularmente importante en las células no proliferativas porque al ser células que no se multiplican van acumulando los

residuos intracelulares. El mal plegamiento y la agregación de proteínas intracelulares son las características típicas de muchas enfermedades neurodegenerativas llamadas proteinopatías. Estas incluyen la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson, las tautopatías y las enfermedades de expansión de poliglutamina como la enfermedad de Huntington.

Las principales funciones de la autofagia se indican en la tabla 1. Varios inductores experimentales de autofagia como son la rapamicina, rapalogs, valproato y litio pueden atenuar la acumulación de la proteína huntingtina mutada y muerte celular en modelos de la enfermedad de Huntington (Rubinsztein et al., 2011).

**Tabla 1. Funciones de la autofagia.**

<b>Funciones de la autofagia</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Favorece la degradación de proteínas intracitoplasmáticas propensas a los agregados como <math>\alpha</math>-sinucleína mutante (Parkinson), tau (Alzheimer) y proteínas de poliglutamina expandida como huntingtina mutante (Huntington)</li><li>• Reguladora de la homeostasis celular</li><li>• Mejora la degradación de varias bacterias y virus por lo que tiene una función protectora frente a numerosas enfermedades infecciosas</li></ul>

La autofagia es un proceso que permite la eliminación de sustancias tóxicas que tienden a acumularse en la célula, por lo que es fundamental en la regulación de la homeostasis celular. Por lo tanto, la autofagia tiene un papel clave en el desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad caracterizadas por el incremento del daño molecular, es el caso de las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson y Huntington.

#### **4.2 Estados y patología asociada a la disminución de la autofagia**

La importancia de la autofagia en el mantenimiento de la homeostasis se evidencia porque su desregulación se asocia a una serie de condiciones en las cuales las funciones fisiológicas y bioquímicas están disminuidas, como el envejecimiento y enfermedades crónicas relacionadas con la edad.

#### 4.2.1. Envejecimiento

El envejecimiento es fundamentalmente el resultado de la pérdida progresiva de los procesos fisiológicos y su mecanismo incluye la pérdida de homeostasis y la acumulación de daño molecular, que inducen la producción de sustancias no deseadas, por ejemplo especies mutadas, menos activas y potencialmente tóxicas de lípidos, proteínas, ARN y ADN. El envejecimiento es un proceso caracterizado por el desarrollo de ciertas patologías, cuya suma puede conducir inevitablemente a la muerte (da Costa et al., 2016). Además del deterioro físico que produce el envejecimiento, el deterioro de las funciones cognitivas como la pérdida progresiva de funciones mentales contribuyen a disminuir la calidad de vida en la población mayor (Sociedad Española de Enfermería Geriátrica y Gerontológica. and Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas., 2009).

El envejecimiento de la población española presenta una serie de desafíos para la política pública, incluida la tarea de gestionar las necesidades sanitarias y sociales de una población cada vez más numerosa en el contexto de un sistema de salud financiado con fondos públicos y tiempos económicos difíciles. En este contexto, España ha implementado recientemente la Estrategia para la Promoción de la Salud y la Prevención de Enfermedades en el Sistema Nacional de Salud, cuyo objetivo principal es fomentar un envejecimiento saludable. Esta iniciativa incluye la mejora de la educación para la salud en centros de atención primaria así como evaluar y abordar la fragilidad en adultos mayores (Rodríguez-Laso et al., 2018).

El envejecimiento puede estar relacionado con el deterioro de los mecanismos de degradación lisosomal como son la autofagia y/o la fagocitosis (Plaza-Zabala et al., 2017). La autofagia cumple una función citoprotectora mediante la eliminación de agregados de proteínas tóxicas, mitocondrias dañadas, patógenos infecciosos intracelulares, etc. Al contribuir a la supervivencia celular, la autofagia puede favorecer el envejecimiento saludable. Por ejemplo, algunos tipos de células con poca capacidad de proliferación como los cardiomiocitos se ven más afectados por la acumulación del estrés y daño oxidativo con el paso del tiempo, con lo cual requieren de un buen funcionamiento de la autofagia para aumentar su supervivencia (Linton et al., 2015).

Existe una evidencia considerable de que el envejecimiento está asociado con una autofagia disminuida (Lapierre et al., 2015; Martínez-Lopez et al., 2015; Rubinsztein et al., 2011; Shirakabe et al., 2016). De hecho, algunos investigadores sugieren que un mal funcionamiento de la autofagia con la edad puede ser responsable de la acumulación de

mitocondrias disfuncionales que incrementan los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Linton et al., 2015).

Una intervención que parece que mejora el envejecimiento saludable y estimula la autofagia en varios modelos animales es la restricción calórica (Colman et al., 2009). Se ha visto que a nivel molecular, los efectos de la restricción calórica en la inducción de la autofagia están mediados por la activación de sensores de energía celular o cambios metabólicos como son AMPK (proteína quinasa activada por AMP) y Sirtuina 1 (proteína codificada por el gen SIRT1) o por la inhibición de la vía de señalización del factor de crecimiento insulínico y mTOR (diana de rapamicina en células de mamífero) (Martinez-Lopez et al., 2015).

De hecho, se ha visto que el uso de inhibidores o activadores de las vías de señalización recientemente explicadas pueden favorecer la pérdida de autofagia durante el envejecimiento. Por ejemplo en los estudios con rapamicina (inhibidor de mTOR) se ha visto que regula positivamente genes involucrados en el aumento de la longevidad (Martinez-Lopez et al., 2015). Además, la reducción de la autofagia puede estimular el envejecimiento cerebral. De forma que se ha encontrado que la autofagia disminuye en neuronas de modelos animales con enfermedades neurodegenerativas relacionadas con la edad tales como isquemia/accidente cerebrovascular, Alzheimer, Parkinson y Huntington (Plaza-Zabala et al., 2017).

#### 4.2.2. Enfermedades relacionadas con la edad

La enfermedad de Alzheimer es el trastorno neurodegenerativo más común que se manifiesta con una pérdida extensa de funciones cognitivas. Se caracteriza por la presencia de placas amiloides (A $\beta$ ) y ovillos neurofibrilares de proteínas tau agregadas, la autofagia tiene un papel fundamental en la eliminación de estos agregados. Al comienzo de la enfermedad la autofagia y la mitofagia se activan por varias vías, sin embargo, a medida que la enfermedad progresa, la autofagia no puede compensar la acumulación de A $\beta$  y tau, lo que conduce a un deterioro de la autofagia (Moloudizargari et al., 2017; Zare-Shahabadi et al., 2015).

La enfermedad de Parkinson es la segunda enfermedad neurodegenerativa más prevalente, los principales desencadenantes de la enfermedad son factores genéticos y ambientales. Los pacientes que sufren esta enfermedad presentan alteraciones motoras como bradicinesia, rigidez muscular, temblor en reposo e inestabilidad postural, así como síntomas no motores psicológicos y somáticos. Se caracteriza por la pérdida de neuronas

dopaminérgicas en el sistema nervioso central y la presencia de cuerpos de Lewy compuestos por agregados proteínicos de  $\alpha$ -sinucleína ( $\alpha$ -syn). Las placas amiloides y los ovillos neurofibrilares de tau también están presentes en la enfermedad de Parkinson (Moloudizargari et al., 2017). La autofagia juega un papel importante en la degradación de  $\alpha$ -syn por lo que su estimulación se presenta como una terapia para combatir la agregación de  $\alpha$ -syn en la enfermedad de Parkinson, la estimulación de la autofagia da como resultado un aumento en la eliminación de  $\alpha$ -syn, además de asociarse con efectos neuroprotectores en modelos tóxicos de la enfermedad de Parkinson (Moors et al., 2017).

La enfermedad de Huntington se caracteriza por disfunciones motoras, cognitivas y psiquiátricas progresivas que se manifiestan con síntomas como corea (baile de San Vito), ataxia, depresión y discinesia, así como trastornos de la memoria y la personalidad. La enfermedad de Huntington es causada por una mutación en un gen responsable de la codificación del fragmento de la poliglutamina de la proteína huntingtina (Moloudizargari et al., 2017). La pérdida de huntingtina o la huntingtina mutante provoca una disminución del transporte del autofagosoma y la consiguiente inhibición de la degradación del sustrato (Menzies et al., 2017).

#### 4.2.3. Terapias farmacológicas y no farmacológicas para el control del envejecimiento

Hay varios enfoques farmacológicos que han dado resultados iniciales prometedores para controlar el envejecimiento. Por ejemplo, la rapamicina es un inmunosupresor, comúnmente utilizado para prevenir el rechazo de órganos que se ha utilizado para el control del envejecimiento (Arriola Apelo and Lamming, 2016; Lapierre et al., 2015). De hecho, se ha demostrado que la rapamicina prolonga la calidad de vida así como la esperanza de vida en ciertas especies de mamíferos, pero no está claro si el medicamento retrasa el envejecimiento de los mamíferos o si tiene efectos aislados sobre la longevidad al suprimir algunas enfermedades crónicas tales como el cáncer. Este compuesto muestra, sin embargo, efectos secundarios graves como son la nefrotoxicidad, trombocitopenia e hiperdislipidemia. En consecuencia, diferentes laboratorios y compañías actualmente buscan desarrollar fármacos para el control del envejecimiento sin los efectos secundarios de la rapamicina (da Costa et al., 2016).

También se ha demostrado que las mitocondrias son particularmente importantes en el envejecimiento ya que una disfunción mitocondrial conduce a la disminución de la función celular, la descomposición de los tejidos y finalmente la muerte. En este sentido, se ha

propuesto que la SIRT1, una desacetilasa dependiente de la nicotinamida adenina dinucleótido celular (NAD<sup>+</sup>), regula la longevidad, posiblemente a través del mantenimiento de la homeostasis mitocondrial (Fang et al., 2014). La suplementación con precursores de la forma oxidada de NAD<sup>+</sup> prolonga tanto la esperanza de vida como la calidad de vida y rescata los fenotipos de envejecimiento prematuro en nematodos y ratones. Por lo tanto, las estrategias farmacológicas dirigidas a la conservación de NAD<sup>+</sup> celular pueden dar como resultado mejoras en la calidad y esperanza de vida de los mamíferos, aunque aún está por verse si producirá beneficios para la salud en general en el envejecimiento de las poblaciones humanas (da Costa et al., 2016).

El uso de antioxidantes puede ejercer efectos beneficiosos sobre el envejecimiento al disminuir la sobrecarga de ERO. Por ejemplo, la melatonina es un potente antioxidante y modulador de la homeostasis mitocondrial que posee efectos protectores en diversos órganos como el corazón, cerebro, hígado, etc. El uso de la melatonina en combinación con otros moduladores de la autofagia podría ser de importancia terapéutica ya que además de inducir la autofagia tendría un potente efecto antioxidante (Moloudizargari et al., 2017).

Teniendo en cuenta que la nanotecnología es una herramienta con un gran potencial farmacológico, podría ser utilizada en biomedicina para el control del envejecimiento. Existen algunos nanodispositivos que pueden liberar medicamentos de forma selectiva en células humanas envejecidas y tiene un enorme potencial en el tratamiento de una gran variedad de enfermedades relacionadas con la edad tales como el cáncer o el Alzheimer. Por lo tanto, existe la posibilidad de que mediante el uso de la nanotecnología se pueda controlar el envejecimiento mediante una disminución de células senescentes (Agostini et al., 2012; da Costa et al., 2016).

Finalmente, varios estudios han demostrado que tanto en modelos animales como en humanos, las intervenciones no farmacológicas como el control de la ingesta de alimentos y el ejercicio podrían tener un impacto positivo en el proceso de envejecimiento (Aiello et al., 2017; Galloza et al., 2017).

La desregulación de la autofagia está relacionada con el envejecimiento, fundamentalmente por la acumulación de sustancias no deseadas. Además esta desregulación también promueve un envejecimiento cerebral que aumenta la probabilidad de padecer

enfermedades neurodegenerativas. Para la prevención y control del envejecimiento existen ciertas terapias farmacológicas como pueden ser el uso de rapamicina, precursores de la forma oxidada de NAD<sup>+</sup>, antioxidantes y nanodispositivos que pueden liberar los fármacos directamente en las células envejecidas, todos ellos podrían mostrar una mejoría en el envejecimiento pero hay que seguir investigando tanto en las terapias ya existentes como en la búsqueda de nuevas terapias. Por otro lado, también existen tratamientos no farmacológicos basados en la dieta y el ejercicio físico fundamentales en el desarrollo del envejecimiento saludable.

### 4.3 Estimuladores de la autofagia

Los estimuladores de la autofagia se pueden clasificar en dos grupos principales: los que actúan a través de dianas dependientes de mTOR como rapamicina, resveratrol y metformina y los que actúan a través de dianas independientes de mTOR como cúrcuma, espermidina y sulforafano (Menzies et al., 2017).

#### 4.3.1. Rapamicina

**Rapamicina** o sirolimus es un macrólido producido por la bacteria *Streptomyces hygroscopicus*. Tiene funciones inmunosupresoras en los seres humanos y se utiliza para prevenir el rechazo en el trasplante de órganos, siendo especialmente útil en trasplantes renales, previene la activación de las células T y las células B al inhibir su respuesta a la IL-2 (interleucina-2)(Kim et al., 2017). Fue aprobada por la FDA (Food and Drug Administration) de EEUU en septiembre de 1999 y se comercializa con el nombre comercial Rapamune por Pfizer (anteriormente por Wyeth) (González-polo et al., 2015). La rapamicina se desarrolló originalmente como un agente antifúngico, sin embargo, este uso se abandonó cuando se descubrió que tenía potentes propiedades inmunosupresoras y antiproliferativas. Desde entonces se ha demostrado que prolonga la vida de los ratones y también podría ser útil en el tratamiento de ciertos cánceres (Kim et al., 2017).

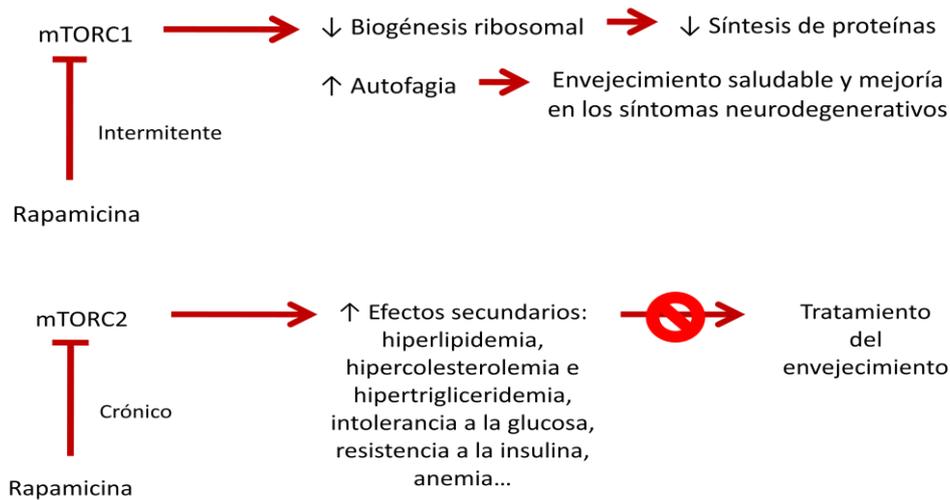
El modo de acción de la rapamicina incluye unirse a una proteína citosólica FKBP12 (peptidil-prolil-isomerasa o inmunofilina) que a su vez inhibe la vía mTORC1 (González-polo et al., 2015). Cabe destacar que existen dos complejos de mTOR (C1 y C2), una diferencia clave entre estos dos complejos es su sensibilidad a la rapamicina; mientras que mTORC1 es extremadamente sensible a la rapamicina, mTORC2 es mucho menos sensible, y se requiere una exposición prolongada y crónica al fármaco para inhibirlo tanto *in vivo* como *in vitro*. La diferencia de sensibilidad de cada complejo mTOR a la rapamicina es de gran importancia para

la investigación con el envejecimiento porque puede determinar el equilibrio entre los beneficios del envejecimiento saludable y los efectos secundarios negativos del fármaco (Arriola Apelo and Lamming, 2016) (Figura 6).

El uso a largo plazo de la rapamicina (que actúa de forma considerable sobre el mTORC2) puede causar efectos secundarios adversos, como una mala cicatrización de las heridas e inmunosupresión general así como hiperlipidemia, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina y diabetes de nueva aparición, anemia y trombocitopenia, trastornos dermatológicos y gastrointestinales, sinusitis, infecciones respiratorias y urinarias y disfunción testicular (Arriola Apelo and Lamming, 2016; González-polo et al., 2015), lo cual no sería adecuado para una terapia que controle el envejecimiento ya que se supone que esta terapia sería a largo plazo. Mientras que la administración intermitente de la rapamicina (la cual actúa principalmente sobre mTORC1) podría ser un método potencial para limitar algunos de sus efectos secundarios negativos a largo plazo (Longo and Fontana, 2011).

La rapamicina induce la autofagia en especies que van desde levaduras hasta mamíferos. De hecho, se ha observado una mejoría de los síntomas neurodegenerativos mediante la inducción de la autofagia en diferentes modelos tanto en *Drosophila* como en ratones con enfermedades relacionadas con la edad como cáncer y enfermedades neurodegenerativas, mejorando el deterioro cognitivo e incluso rejuveneciendo los corazones de ratones de edad avanzada (Arriola Apelo and Lamming, 2016; González-polo et al., 2015).

En general, los estudios *in vitro* han demostrado que el tratamiento con rapamicina y sus derivados, los cuales se han visto que induce la autofagia, promueven la eliminación de las proteínas propensas a agregados involucradas en la neurodegeneración, incluidas las proteínas que contienen poliglutamina y polialanina, tau mutante,  $\alpha$ -sinucleína, TDP-43 (Transactive response DNA bindingprotein 43) y proteína priónica entre otras proteínas relacionadas con PMD (Trastorno relacionado con un mal plegamiento de proteínas) (González-polo et al., 2015).



**Figura 6. Mecanismo de acción de la rapamicina.** La rapamicina inhibe de forma aguda a mTORC1, mientras que la administración crónica también inhibe mTORC2, ya que al ser más resistente a la rapamicina necesita una exposición prolongada al fármaco para inhibirse, en la mayoría de los tejidos. La inhibición de mTORC1 promueve la longevidad a través de vías que incluyen la biogénesis ribosomal, lo que hace que se vea disminuida la síntesis de proteínas, y el aumento de la autofagia haciendo que se promueva un envejecimiento saludable y la mejoría en síntomas neurodegenerativos. Por otro lado, la inhibición de mTORC2 solo se da cuando hay una exposición prolongada o crónica de rapamicina, ya que mTORC2 es resistente a este fármaco, dando lugar a una gran cantidad de efectos adversos lo cual no sería recomendable en el tratamiento para el control del envejecimiento.

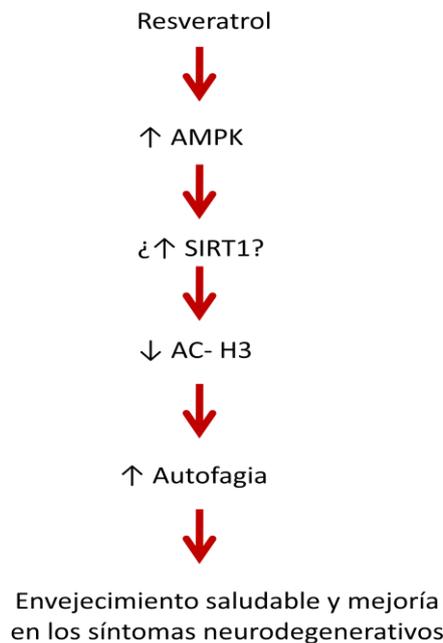
#### 4.3.2. Resveratrol

**Resveratrol** es un polifenol producido por muchas especies de plantas en respuesta a una lesión o cuando la planta ha sido atacada por patógenos como bacterias u hongos, tiene varios efectos beneficiosos para la salud como es la protección contra problemas cardiovasculares, neurodegeneración y cáncer (Luyten et al., 2017), además estos efectos beneficiosos parecen imitar a varios de los efectos positivos de la restricción calórica en la salud (González-polo et al., 2015). El resveratrol también es un agente antiinflamatorio y antienvjecimiento, ejerciendo funciones neuroprotectoras, en modelos con enfermedad de Parkinson tanto *in vivo* como *in vitro*, tales como la apoptosis inducida por dopamina en células neuronales SH-SY5Y, el modelo de rata con enfermedad de Parkinson tratado con oxidopamina (6-OHDA) y el modelo de ratones con Parkinson tratados con la neurotoxina 1-metil-4-fenil,6-tetrahidropiridina (MPTP) (Wu et al., 2011).

El resveratrol induce la autofagia mediante la activación de la vía AMPK. Más concretamente un aumento en el nivel de la activación (aumento de la p-AMPK) por

resveratrol está acompañado por el aumento del nivel de proteína LC3-II , la cual está presente en las membranas autofagosómicas y es un indicador de la inducción de la autofagia. Sin embargo, este efecto sobre la inducción de la autofagia es bloqueado por el compuesto C, inhibidor de AMPK, lo que indica que la activación de AMPK está involucrada en la inducción de autofagia por resveratrol (Kulkarni and Cantó, 2015).

SIRT1 es una proteína que se puede encontrar tanto en el núcleo como en el citosol de la mayoría de los tejidos de mamíferos, sin embargo, su expresión puede cambiar en respuesta al estrés metabólico o déficit de nutrientes. En los mamíferos, funciona como una desacetilasa dependiente de NAD<sup>+</sup> así como ADP ribosiltransferasa dirigida a proteínas tanto histonas como no histonas mediante la modulación de sus niveles de acetilación. Cuando SIRT1 es fosforilada por JNK1 (c-Jun N-terminal quinasa) desencadena la desacetilación de la histona H3, que es un sustrato de SIRT1 bien establecido. Aunque el resveratrol causa la activación de AMPK no va acompañado de un aumento marcado en el nivel de proteína SIRT1, sin embargo, el nivel de proteína de histona 3 acetilada (AC-H3) disminuyó en el tratamiento con resveratrol lo que indica que la actividad desacetilasa de SIRT1 está aumentada (Wu et al., 2011)(Figura 7).



**Figura 7. Mecanismo de acción del resveratrol.** El resveratrol causa la activación de proteína quinasa activada por AMP (AMPK), sin embargo, no produce un aumento marcado de la proteína sirtuina 1 (SIRT1) encargada de la desacetilación de la histona H3, la actividad de SIRT1 se corrobora mediante la disminución de la histona H3 acetilada (AC-H3). Así el resveratrol induce la autofagia, lo que hace que se promueva un envejecimiento saludable y mejora en las enfermedades neurodegenerativas.

#### 4.3.3. Metformina

La **metformina** o clorhidrato de dimetilbiguanida fue sintetizada en primer lugar como un producto intermedio de clorhidrato de metilguanidina en 1922 (Kim and You, 2017). En 1957, Jean Sterne mostró que la administración oral de metformina redujo efectivamente el nivel de glucosa en la sangre de pacientes con diabetes tipo 2 sin causar hipoglucemia ni acidosis láctica. La metformina además de reducir los niveles de glucosa mejora la sensibilidad a la insulina de ahí que actualmente sea el antidiabético más común (Byun et al., 2017; Kim and You, 2017; Wang et al., 2017).

Entre sus mecanismos de acción la metformina ha estado relacionada en la supresión de varios tipos de cáncer, mediante la inducción de la autofagia. La administración de metformina inhibió el crecimiento de tumores de melanoma en ratones y aumentó los marcadores de autofagia y apoptosis en muestras de tumores. Se observaron efectos similares para la metformina en una línea celular de cáncer de endometrio. Además podría ser eficaz en modelos animales con enfermedad de Alzheimer, Huntington y de Lafora (forma de epilepsia mioclónica progresiva), sin embargo, podría no serlo en modelos con Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) (Menzies et al., 2017; Takahashi et al., 2014).

La metformina inhibe el complejo I (cataliza la transferencia de electrones del NADH al coenzima Q de la cadena respiratoria) en las mitocondrias y, como resultado disminuye la oxidación de NADH, reduciendo así el bombeo de protones a través de la membrana mitocondrial interna y disminuyendo la tasa de consumo de oxígeno. El gradiente de protones reducido y el aumento de la relación AMP/ATP conducen a la activación de AMPK. Éste desencadena una cascada de procesos que inhiben la expresión de genes para la gluconeogénesis e inhiben procesos de consumo de energía como la lipogénesis (Kim and You, 2017).

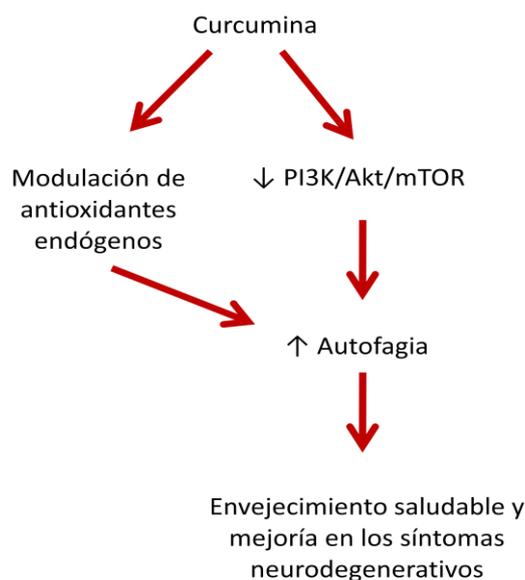
Por otro lado, la metformina inhibe el complejo mTORC1 tanto en dependencia de AMPK como de manera independiente. En el mecanismo dependiente de AMPK la metformina activa AMPK, éste activa TSC1/2 (complejo de proteínas de esclerosis tuberosa 1 y 2), el regulador negativo de mTORC1 y como resultado la metformina inhibe mTORC1. El mecanismo independiente de AMPK no está totalmente claro por lo que se supone que AMPK podría fosforilar directamente el Raptor, una parte del complejo mTORC1, y así inhibir la actividad del mTORC1 (Kim and You, 2017) (Figura 8).



La capacidad anticancerígena de la curcumina ha sido bien estudiada en una variedad de cánceres, entre los que se encuentran el cáncer de mama, próstata y melanoma (Liu and Chen, 2013). Además, se cree que la curcumina es un potente antioxidante capaz de reducir eficientemente los radicales libres y por lo tanto actúa contra el estrés oxidativo. La curcumina modula los antioxidantes endógenos como son superóxidodismutasa (SOD), catalasa, glutatión peroxidasa (GSH) y el mecanismo de degradación celular (Tripanichkul and Jaroensupaperch, 2013).

Protege contra la lesión inducida por la 6-OHDA, una neurotoxina que aumenta la producción de oxidantes y disminuye el nivel de SOD, lo que lleva a la degeneración de las neuronas dopaminérgicas. El ingrediente principal de la cúrcuma exhibe un efecto neuroprotector al restaurar el nivel de SOD e inhibir la activación neuroglial. Sin embargo, la curcumina no es capaz de prevenir la neuroinflamación pero puede atenuarla por su actividad antioxidante (Tripanichkul and Jaroensupaperch, 2013).

Además de su efecto directo sobre la inducción de la autofagia, se ha visto que la curcumina podría ejercer indirectamente un efecto terapéutico antioxidante en enfermedades neurodegenerativas mediante la limpieza de proteínas oxidadas y orgánulos dañados (González-polo et al., 2015; Hu et al., 2017). A nivel molecular se ha visto que en estudios tanto *in vivo* (ratones dobles transgénicos mutados para APP/PS1 de Alzheimer) como *in vitro* (modelo celular de Parkinson) mostraron que la curcumina induce la autofagia al aumentar el número de autofagosomas así como la expresión de las proteínas Beclin-1 (proteína de mamíferos que tiene un papel central en la autofagia) y LC3 (proteína que se distribuye de forma ubicua en tejidos de mamíferos y células cultivadas que se recluta en membranas autofagosómicas) mediante la inhibición de la vía de señalización PI3K/Akt/mTOR (González-polo et al., 2015) (Figura 9). Sin embargo, a pesar de su efecto beneficioso contra la neurotoxicidad, la curcumina no es fácil de utilizar puesto que se degrada rápidamente a pH fisiológico, lo que supone una desventaja en su uso terapéutico, además es sensible a la luz y puede perder su color (González-polo et al., 2015).



**Figura 9. Mecanismo de acción de la curcumina.** La curcumina modula los antioxidantes endógenos como SOD, catalasa o GSH peroxidasa. Además ejerce su efecto anticancerígeno al inducir la autofagia a través de la reducción de PI3K/Akt/mTOR.

#### 4.3.5. Espermidina

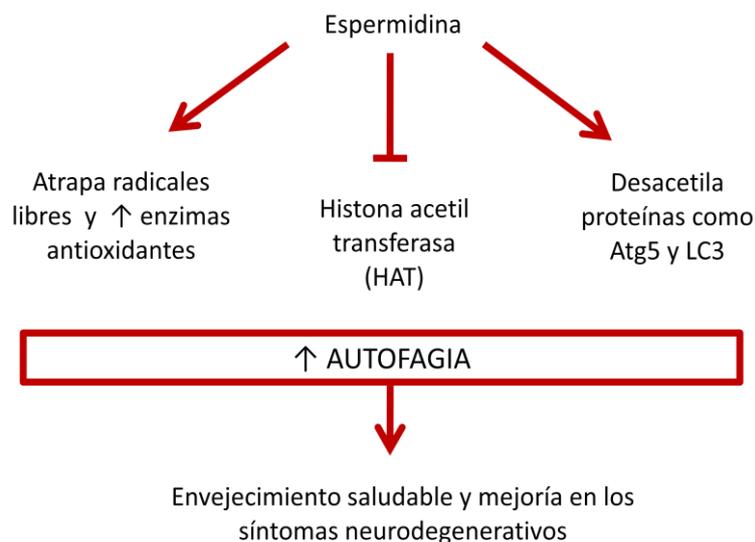
La **espermidina** es un poliamina de origen natural que se encuentra en gran cantidad en ciertos alimentos, por ejemplo, en el salvado del arroz, la soja, el queso, los champiñones y el brócoli. La suplementación con espermidina en la dieta durante toda la vida conduce a aumentos significativos en la vida media de ratones de laboratorio (Tong and Hill, 2017). El metabolismo de las poliaminas está frecuentemente alterado en las células cancerosas y se asocia con concentraciones de poliaminas superiores a las observadas en células normales, de hecho, la inhibición de poliaminas o de su biosíntesis es una estrategia potencial para la quimioterapia del cáncer (Herrera et al., 2014).

La forma en la que las poliaminas actúan sobre el estrés oxidativo parece estar vinculada con su capacidad para atrapar radicales libres y para estimular la expresión de enzimas de la fase 2 como glutatión S-transferasa o la UDP-glucuroniltransferasa entre otras, siendo el factor 2 relacionado con el factor nuclear E2 (Nrf2) el encargado de modular la respuesta antioxidante (Herrera et al., 2014).

El mecanismo involucrado en sus efectos sobre la autofagia se basa en cambios en el estado de acetilación de las proteínas involucradas en la autofagia. La inducción de la autofagia es independiente de mTOR así como también es independiente de las vías que implican

sirtuinas (González-polo et al., 2015). Se ha demostrado que la espermidina actúa como inhibidor de la histona acetiltransferasa (HAT), encargada de la regulación de la expresión génica, *in vitro* y podría desacetilar proteínas involucradas en la autofagia como Atg5 y LC3 (Madeo et al., 2010) (Figura 10).

Según un análisis de necropsia se determinó que el tratamiento con espermidina no afecta la incidencia de cáncer, lo que indica que el efecto beneficioso de la espermidina no se debió a la supresión de la carcinogénesis. En contraste, los ratones alimentados con espermidina mostraron una mejora significativa en las características clave asociadas con el envejecimiento cardíaco, probablemente mejorando la función mitocondrial, inhibiendo la inflamación crónica y modificando la fosforilación de ciertas proteínas clave. Por otra parte, hasta la fecha se sabe poco sobre el efecto de la espermidina en las enfermedades neurodegenerativas (González-polo et al., 2015; Tong and Hill, 2017).



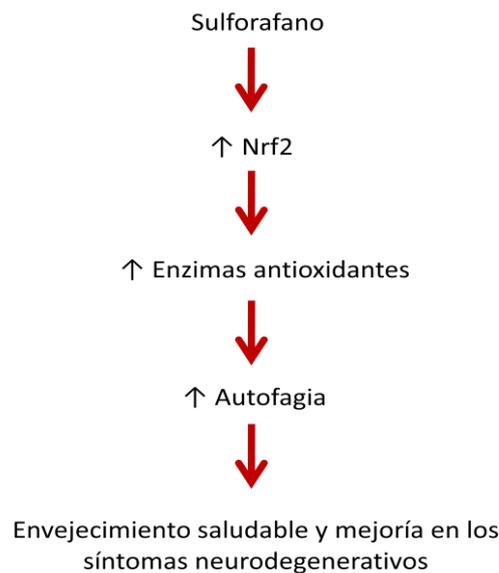
**Figura 10. Mecanismo de acción de la espermidina.** La espermidina actúa sobre el estrés oxidativo atrapando radicales libres y aumentando las enzimas antioxidantes. Además, se encarga de inhibir la HAT, así como de desacetilar proteínas involucradas en la autofagia como son Atg5 y LC3. La espermidina estimula la autofagia a través de un mecanismo múltiple que involucra un gran número de reacciones de desacetilación.

#### 4.3.6. Sulforafano

El **sulforafano** es una sustancia natural que está constantemente bajo investigación biológica por sus propiedades biológicas y también se estudia ampliamente como un agente quimiopreventivo. Se produce por la mirosinasa cuando las verduras crucíferas son dañadas (o

se mastican) (Leone et al., 2017). Para obtener efectos protectores en trastornos neurodegenerativos, como la enfermedad de Parkinson o Alzheimer así como para mejorar la función cerebral, el sulforafano debe de cruzar la barrera hematoencefálica y acumularse en el sistema nervioso central pero aún no está totalmente claro (González-polo et al., 2015).

Independientemente del metabolismo y la distribución de los conjugados de sulforafano, su principal acción protectora consiste en la capacidad de inducir enzimas citoprotectoras de fase II contra ERO (González-polo et al., 2015). La activación de la respuesta antioxidante se modula por Nrf2, el cual es un potente inductor de la transcripción de las enzimas antioxidantes (Jo et al., 2014) (Figura 11).



**Figura 11. Mecanismo de acción del sulforafano.** El sulforafano activa al factor 2 relacionado con el factor nuclear E2 (Nrf2), encargada de controlar el modo en que se expresan ciertos genes que ayudan a proteger la célula del daño que causan los radicales libres, lo que hace que aumente la generación de enzimas antioxidantes, favoreciendo así la autofagia.

#### 4.3.7. Otros

Se están descubriendo un número creciente de inductores de la autofagia que pueden actuar en otras vías, incluidos los compuestos que actúan sobre la modulación del AMP cíclico (AMPc)/inositoltrifosfato (IP3), como la rilmenidina, clonidina, minoxidil y verapamilo que han demostrado mejorar los fenotipos en modelos animales de enfermedad de Huntington (Menzies et al., 2017).

Como la activación de la autofagia está ligada con el desarrollo de un envejecimiento saludable, se están estudiando multitud de estimuladores de la autofagia encargados de mejorar los síntomas vinculados con las enfermedades relacionadas con la edad y de esta forma potenciar el envejecimiento saludable. Algunos de los estimuladores de la autofagia tratados en este trabajo son rapamicina, resveratrol, metformina, cúrcuma, espermidina y sulforafano, su investigación es muy importante puesto que en un futuro podrían ser la clave en el tratamiento de enfermedades que aparecen con la edad que actualmente no tienen cura.

## **5. CONCLUSIONES**

Primera conclusión.- La autofagia es un proceso que permite que orgánulos y macromoléculas dañadas se degraden, para así poder restaurar la homeostasis celular. Además mediante la autofagia la célula obtiene nutrientes y energía durante la escasez metabólica. Dentro de los distintos tipos de autofagia se encuentran macroautofagia, microautofagia y autofagia mediada por chaperonas, los cuales se diferencian en la forma en la que se degradan los residuos intracelulares.

Segunda conclusión.- Entre las funciones de autofagia destacan la degradación de proteínas intracitoplasmáticas propensas a los agregados, que dan lugar a enfermedades como son Alzheimer, Parkinson o Huntington, regulación de la homeostasis celular y eliminación de ciertas bacterias y virus.

Tercera conclusión.- La autofagia es fundamental ya que su desregulación lleva asociada una alteración en funciones tanto fisiológicas como bioquímicas que conducen a un envejecimiento acelerado así como al desarrollo en enfermedades crónicas relacionadas con la edad.

Cuarta conclusión.- Para atenuar las alteraciones asociadas a la desregulación de la autofagia se están estudiando distintos tipos de estimuladores de la misma, estos se clasifican en estimuladores de la autofagia dependientes de mTOR, como son rapamicina, resveratrol y metformina, y aquellos que son independientes de mTOR como cúrcuma, espermidina y sulforafano.

Reflexión.- Tras la realización de esta revisión bibliográfica se puede decir que la autofagia es un proceso esencial ya que promueve un envejecimiento saludable y una mejoría

en aquellos síntomas relacionados con las enfermedades crónicas asociadas a la edad, por lo que su estudio es fundamental para así en un futuro poder mejorar no solo la esperanza de vida sino también la calidad de vida.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Agostini A, Mondragón L, Bernardos A, Martínez-Mañez R, Marcos MD, Sancenón F, et al. Targeted cargo delivery in senescent cells using capped mesoporous silica nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2012; 51(42): 10556-60
- Aiello A, Accardi G, Candore G, Gambino CM, Mirisola M, Taormina G, et al. Nutrient sensing pathways as therapeutic targets for healthy ageing. *Expert Opin Ther Targets.* 2017; 21(4): 371-80
- Arriola Apelo SI, Lamming DW. Rapamycin: An inhibitor of aging emerges from the soil of Easter Island. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2016; 71(7): 841-9
- Byun S, Lee E, Lee KW. Therapeutic implications of autophagy inducers in immunological disorders, infection, and cancer. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(9): 1959
- Chen R, Wang G, Zheng Y, Hua Y, Cai Z. Drug resistance-related microRNAs in osteosarcoma: Translating basic evidence into therapeutic strategies. *J Cell Mol Med.* 2019; 23(4): 2280-92
- Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC, Kastman EK, Kosmatka KJ, Beasley TM, et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science.* 2009; 325(5937): 201-4
- da Costa JP, Vitorino R, Silva GM, Vogel C, Duarte AC, Rocha-Santos T. A synopsis on aging-Theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Res Rev.* 2016; 29: 90-112
- Fang EF, Scheibye-Knudsen M, Brace LE, Kassahun H, SenGupta T, Nilsen H, et al. Defective mitophagy in XPA via PARP-1 hyperactivation and NAD(+)/SIRT1 reduction. *Cell.* 2014; 157(4): 882-96

- Galloza J, Castillo B, Micheo W. Benefits of exercise in the older population. *Phys Med Rehabil Clin N Am.* 2017; 28(4): 659-69
- González-Polo RA, Pizarro-Estrella E, Yakhine-Diop SM, Rodríguez-Arribas M, Gómez-Sánchez R, Pedro JM, et al. Is the modulation of autophagy the future in the treatment of neurodegenerative diseases?. *Curr Top Med Chem.* 2015; 15(21): 2152-74
- Herrera C, Chávez JL, Ferriz RA, de la Torre K, Elton E, García T. Poliaminas: pequeños gigantes de la regulación metabólica. *Rev educ bioquim.* 2014; 33(2): 51-57
- Hu RW, Carey EJ, Lindor KD, Tabibian JH. Curcumin in hepatobiliary disease: Pharmacotherapeutic properties and emerging potential clinical applications. *Ann Hepatol.* 2017; 16(6): 835-41
- Jo C, Kim S, Cho SJ, Choi KJ, Yun SM, Koh YH, et al. Sulforaphane induces autophagy through ERK activation in neuronal cells. *FEBS Lett.* 2014; 588(17): 3081-8
- Kim J, You YJ. Regulation of organelle function by metformin. *IUBMB Life.* 2017; 69(7): 459-69
- Kim LC, Cook RS, Chen J. mTORC1 and mTORC2 in cancer and the tumor microenvironment. *Oncogene.* 2017; 36(16): 2191-2201
- Kulkarni SS, Cantó C. The molecular targets of resveratrol. *Biochim Biophys Acta.* 2015; 1852(6): 1114-23
- Lapierre LR, Kumsta C, Sandri M, Ballabio A, Hansen M. Transcriptional and epigenetic regulation of autophagy in aging. *Autophagy.* 2015; 11(6): 867-80
- Leone A, Diorio G, Sexton W, Schell M, Alexandrow M, Fahey JW, et al. Sulforaphane for the chemoprevention of bladder cancer: molecular mechanism targeted approach. *Oncotarget.* 2017; 8(21): 35412-35424
- Lin TA, Wu VC, Wang CY. Autophagy in chronic kidney diseases. *Cells.* 2019; 8(1):61

- Linton PJ, Gurney M, Sengstock D, Mentzer RM Jr, Gottlieb RA. This old heart: Cardiac aging and autophagy. *J Mol Cell Cardiol.* 2015; 83: 44-54
- Liu D, Chen Z. The effect of curcumin on breast cancer cells. *J Breast cancer.* 2013; 16(2): 133-7
- Longo VD, Fontana L. Intermittent supplementation with rapamycin as a dietary restriction mimetic. *Aging (Albany NY).* 2011; 3(11): 1039-40
- Luyten T, Welkenhuyzen K, Roest G, Kania E, Wang L, Bittremieux M, et al. Resveratrol-induced autophagy is dependent on IP<sub>3</sub>Rs and on cytosolic Ca<sup>2+</sup>. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 2017; 1864(6): 947-56
- Madeo F, Eisenberg T, Büttner S, Ruckenstuhl C, Kroemer G. Spermidine: a novel autophagy inducer and longevity elixir. *Autophagy.* 2010; 6(1): 160-2
- Madeo F, Zimmermann A, Maiuri MC, Kroemer G. Essential role for autophagy in life span extension. *J Clin Invest.* 2015; 125(1): 85-93
- Martinez-Lopez N, Athonvarangkul D, Singh R. Autophagy and aging. *Adv Exp Med Biol.* 2015; 847: 73-87
- Menzies FM, Fleming A, Caricasole A, Bento CF, Andrews SP, Ashkenazi A, et al. Autophagy and neurodegeneration: Pathogenic mechanisms and therapeutic opportunities. *Neuron.* 2017; 93(5): 1015-1034
- Moloudizargari M, Asghari MH, Ghobadi E, Fallah M, Rasouli S, Abdollahi M. Autophagy, its mechanisms and regulation: Implications in neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev.* 2017; 40: 64-74
- Moors TE, Hoozemans JJ, Ingrassia A, Beccari T, Parnetti L, Chartier-Harlin MC, et al. Therapeutic potential of autophagy-enhancing agents in Parkinson's disease. *Mol Neurodegener.* 2017; 12(1): 11

- Organización Mundial de la Salud. Informe mundial sobre el envejecimiento y la salud. Ginebra: OMS; 2015. WHO/FWC/ALC/15.01
- Plaza-Zabala A, Sierra-Torre V, Sierra A. Autophagy and microglia: Novel partners in neurogeneration and aging. *Int J Mol Sci.* 2017; 18(3)
- Rodriguez-Laso A, McLaughlin SJ, Urdaneta E, Yanguas J. Defining and estimating healthy aging in Spain: A cross-sectional study. *Gerontologist.* 2018; 58(2): 388-98
- Rubinsztein DC, Mariño G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell.* 2011; 146(5): 682-95
- Sarabia CM. Envejecimiento exitoso y calidad de vida. Su papel en las teorías del envejecimiento. *Gerokomos.* 2009; 20(4): 172-74
- Shirakabe A, Ikeda Y, Sciarretta S, Zablocki DK, Sadoshima J. Aging and autophagy in the heart. *Circ Res.* 2016; 118(10): 1563-76
- Takahashi A, Kimura F, Yamanaka A, Takebayashi A, Kita N, Takahashi K, et al. Metformin impairs growth of endometrial cancer cells via cell cycle arrest and concomitant autophagy and apoptosis. *Cancer Cell Int.* 2014; 14: 53
- Tong D, Hill JA. Spermidine promotes cardioprotective autophagy. *Circ Res.* 2017; 120(8): 1229-31
- Tripanichkul W, Jaroensuppaperch EO. Ameliorating effects of curcumin on 6-OHDA-induced dopaminergic denervation, glial response, and SOD1 reduction in the striatum of hemiparkinsonian mice. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013; 17(10): 1360-8
- Wang GY, Bi YG, Liu XD, Zhao Y, Han JF, Wei M, et al. Autophagy was involved in the protective effect of metformin on hyperglycemia-induced cardiomyocyte apoptosis and Connexin43 downregulation in H9c2 cells. *Int J Med Sci.* 2017; 14(7): 698-704

- Wu Y, Li X, Zhu JX, Xie W, Le W, Fan Z, et al. Resveratrol-activated AMPK/SIRT1/autophagy in cellular models of Parkinson's disease. *Neurosignals*. 2011; 19(3): 163-74
  
- Zare-Shahabadi A, Masliah E, Johnson GV, Rezaei N. Autophagy in Alzheimer's disease. *Rev Neurosci*. 2015; 26(4): 385-95
  
- Zimmermann A, Hofer S, Pendl T, Kainz K, Madeo F, Carmona-Gutierrez D. Yeast as a tool to identify anti-aging compounds. *FEMS Yeast Res*. 2018; 18(6)