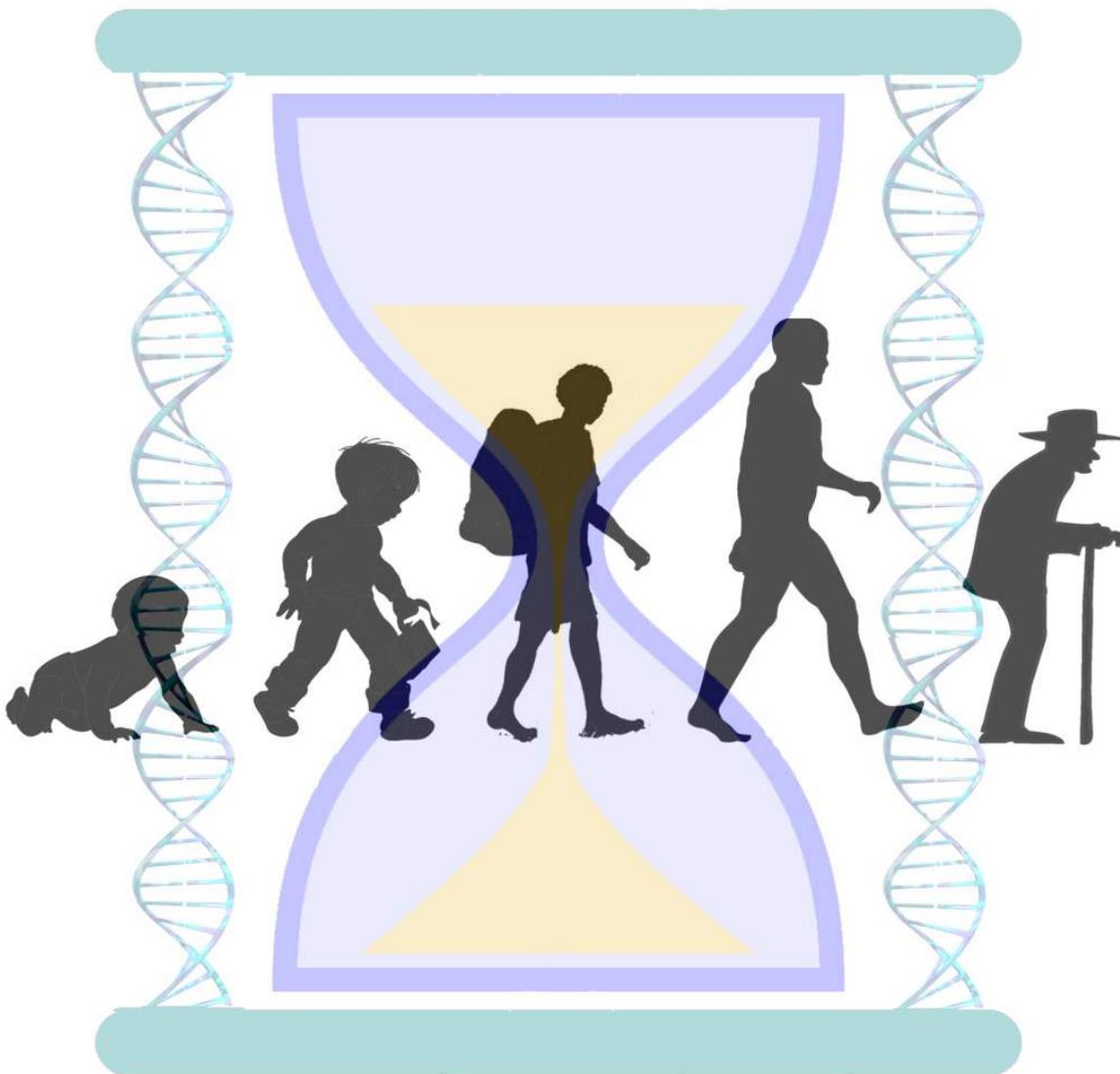


Encuentros en la **b**iología



**Envejecimiento
animal**

Restricción calórica
¿Podría prolongar la
vida en humanos?

Envejecimiento
Un problema científico y
filosófico

**Envejecimiento
cerebral**
¿Un proceso
irreversible?

Vol IX | No 160
MONOGRÁFICO | 2016

ENCUENTROS EN LA BIOLOGÍA
Revista de divulgación científica
Indexada en *Dialnet*

Entidad editora:
Universidad de Málaga
EDITADA SIN FINANCIACIÓN INSTITUCIONAL, PÚBLICA
NI PRIVADA

Depósito legal: MA-1.133/94
ISSN (versión electrónica): 2254-0296
ISSN (versión impresa): 1134-8496

Periodicidad:
4 números ordinarios (trimestrales) y al menos
1 número extraordinario monográfico al año

Correspondencia a:
José M^a Blanco
Departamento de Ecología
Facultad de Ciencias
Universidad de Málaga
29071 - Málaga
encuentrosenlabiologia@uma.es

EQUIPO EDITORIAL

COEDITORES

- Héctor Valverde Pareja
hvalverde@uma.es
Biología evolutiva
molecular
*Gestión de
infraestructuras,
editoriales,
maquetación.*
- José M^a Blanco Martín
jmblanco@uma.es
Ecología
*Coordinación general,
editoriales, la imagen
comentada,
maquetación.*

COMITÉ EDITORIAL EJECUTIVO

- Ana Grande
agrande@uma.es
Genética-virología,
Patogénesis virales.
Jóvenes científicos.
- Antonio Diéguez
dieguez@uma.es
Filosofía de la ciencia
A debate, reseñas.
- Carmen González
carmen.glez@uma.es
Información y
documentación
Calidad y difusión.
- Enrique Moreno Ostos
quique@uma.es
Ecología y limnología
Encontronazos.
- Enrique Viguera
eviguera@uma.es
Genética y genómica
Eventos especiales.
- Francisco José Villena
francis.villena@icloud.com

Jóvenes científicos.

- José Carlos Dávila
davila@uma.es
Biología celular y
neurobiología
¿Cómo funciona?
- José M^a Pérez Pomares
jmperezp@uma.es
Biología del desarrollo y
cardiovascular
Entrevistas.
- Juan A. García Ranea
ranea@uma.es
Bioinformática y
biología de sistemas
Modelos en biología.
- Juan A. Pérez Claros
johnny@uma.es
Paleontología
*Encuentros con las
novedades.*
- Juan Carlos Aledo
caledo@uma.es
Bioquímica y biología
molecular
*Energética de procesos
biológicos, vida y obra.*
- Juan Carlos Codina
jccodina@uma.es
Microbiología,
educación secundaria
Ciencias en el bachillerato.
- Luis Rodríguez Caso
caso@eelm.csic.es
Técnicas de laboratorio
Calidad y difusión.
- Miguel A. Medina
Torres
medina@uma.es
Biología molecular y de
sistemas, biofísica y
bioquímica
Monitor.
- Ramón Muñoz-Chápuli

chapuli@uma.es

Biología del desarrollo y
cardiovascular
*Coordinación de la
edición electrónica,
foros de la ciencia.*

- Raúl Montañez
jmperezp@uma.es
raulmm@gmail.com
Biología sintética y de
sistemas
Coordinación de diseño.

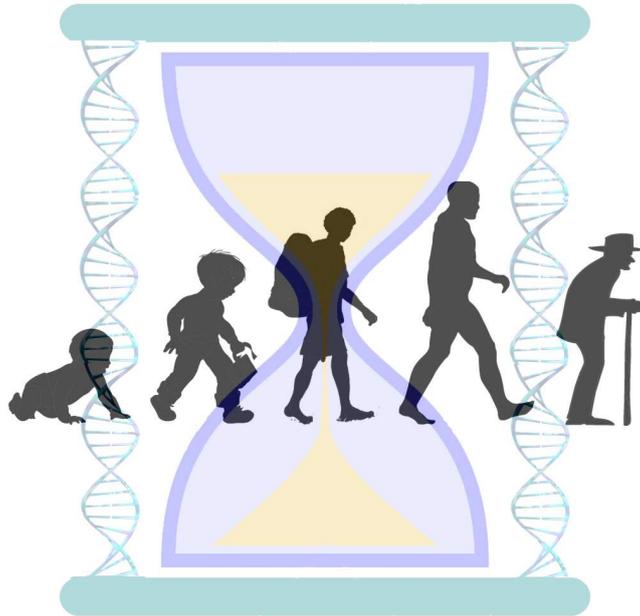
COMITÉ EDITORIAL ASOCIADO

- Alberto Martínez
almarvi@wanadoo.es
Educación ambiental y
para el empleo.
- Alejandro Pérez García
aperez@uma.es
Microbiología,
interacción
planta-patógeno.
- Alicia Rivera
arivera@uma.es
Neurobiología y
enfermedades
neurodegenerativas.
- Beatriz Martínez
Poveda
bmpoveda@uma.es
Biología molecular del
cáncer y enfermedades
cardiovasculares.
- Félix López Figueroa
felix_lopez@uma.es
Ecología y fotobiología,
cambio climático.
- Francisco Cánovas
canovas@uma.es
Fisiología molecular
vegetal, bioquímica y
biología molecular.
- Jesús Olivero
jesusolivero@uma.es

Zoogeografía y biodiversidad animal.

- Juan Antonio Guadix
Dominguez
jaguadix@uma.es
Desarrollo embrionario,
diferenciación celular y
biología de células
madre.
- Margarita Pérez Martín
marper@uma.es
Fisiología animal,
neurogénesis.
- M^a del Carmen Alonso
mdalonso@uma.es
Microbiología de aguas,
patología vírica de
peces.
- M^a Jesús García
Sánchez
mjgs@uma.es
Fisiología vegetal,
nutrición mineral.
- María Jesús Perlés
mjperles@uma.es
Geomorfología, riesgos
medioambientales.
- M. Gonzalo Claros
claros@uma.es
Bioquímica, biología
molecular y
bioinformática.
- Raquel Carmona
rcarmona@uma.es
Ecofisiología,
Biorremediación.
- Reinald Pamplona
reinald.pamplona@mex.udl.cat
Fisiología, medicina
experimental.
- Salvador Guirado
guirado@uma.es
Biología celular,
neurobiología.

La portada



La evolución del individuo, desde la infancia hasta la vejez, representada con el trasfondo del tiempo y la biología. El paso del tiempo es uno de los principales temas existenciales para el ser humano. ¿Sus efectos son inexorables? ¿Significa lo mismo para otros seres vivos? Fuente: Elaboración propia del equipo editorial.

Índice

Presentación del monográfico	151
Envejecimiento animal	152
Restricción calórica	157
La lucha contra el envejecimiento	160
Envejecimiento cerebral	165
Rejuvenecimiento celular	175

PRESENTACIÓN DEL MONOGRÁFICO

EL ENVEJECIMIENTO: UN DESAFÍO PARA LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

«Todos deberían vivir mucho y nadie debería ser viejo»

Benjamin Franklin

El presente volumen comprende un conjunto de trabajos, escritos por investigadores provenientes de diversas áreas de conocimiento, acerca de uno de los temas que más interés ha despertado en los últimos años entre el público culto en general y entre los medios de comunicación: el de las causas del envejecimiento en animales y en seres humanos y la posibilidad técnica de su control. Este es, en efecto, un campo de estudio en clara expansión (muchos especialistas prefieren denominarlo de una forma más estricta como biogerontología) y del que se esperan grandes avances en los próximos años.

Hace algo más de una década, John E. Morley publicó en la revista *The Journals of Gerontology: Series A* un artículo sobre las diez áreas centrales en la investigación científica acerca del envejecimiento humano^[1]. Según su criterio, eran las siguientes: (1) declive cognitivo; (2) depresión; (3) limitaciones en la movilidad; (4) nutrición; (5) la fuente hormonal de la juventud; (6) fragilidad y sarcopenia; (7) enfermedad cardiovascular (hipertensión); (8) deterioro del sistema inmune; (9) «los mecanismos de la inmortalidad»; (10) sistemas en geriatría. Es posible que algunas de estas líneas de investigación ya no posean el mismo interés inicial, mientras que otras, como la (9), parecen despertar una atención creciente, pero todas son, sin duda, fundamentales en la agenda intelectual de cualquier persona que se dedique al envejecimiento.

Lo que pretendemos con este número, como hizo Morley en su día, es ofrecer una visión escueta del estado actual de la investigación en este campo, o dicho de forma más precisa, presentamos algunas de las cuestiones que aún no están resueltas y sobre las que se están produciendo avances significativos; en particular enfocamos nuestra atención en la evaluación de algunas intervenciones y terapias para retrasar o revertir el proceso de envejecimiento. Nos interesa reflexionar sobre la dirección que está tomando la investigación científica dirigida a este fin y sobre el impacto social que pueden tener ciertos intentos de extensión (radical) de la vida humana.

Porque, en efecto, consideramos que el problema del envejecimiento ofrece motivos de reflexión desde una doble perspectiva. Por un lado, es necesario el análisis científico sobre qué es el envejecimiento biológico, cuáles son sus causas y qué implicaciones tiene desde un punto de vista evolutivo y biomédico; por otro lado, es importante completar dicho análisis con una reflexión humanista acerca de los fines y consecuencias previsibles para el ser humano, incluso a largo plazo, de las investigaciones que se llevan a cabo en este campo.

Referencias

¹Morley, JE. The Top 10 Hot Topics in Aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 59(1): M24-M33. doi: 10.1093/gerona/59.1.M24. 2004.

Antonio Diéguez, Pablo García-Barranquero y Ramón Muñoz Chapuli

ENVEJECIMIENTO ANIMAL

por RITA CARMONA, ANA CAÑETE Y RAMÓN MUÑOZ-CHÁPULI

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA ANIMAL, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

CHAPULI@UMA.ES

Palabras clave: *Envejecimiento, senescencia, metazoos, longevidad*

Enviado: 11 de octubre de 2016

Keywords: *Aging, senescence, metazoans, longevity*

Aceptado: 30 de octubre de 2016

Hacemos una revisión del concepto de envejecimiento en los Metazoos y mostramos la existencia de una gran diversidad de casos que impiden establecer una regla general para este concepto en el Reino Animal. Describimos casos de especies en las que no existe envejecimiento, otras que muestran senescencia insignificante y otras en las que se producen fenómenos de senescencia con disminución o desaparición de la fecundidad. Discutimos también las distintas hipótesis para explicar la conservación evolutiva de procesos de senescencia que disminuyen la aptitud del individuo, así como los mecanismos fisiológicos implicados en dichos procesos.

We review herein the concept of aging in Metazoans, showing the large diversity of cases that prevents the establishment of a general rule for the Animal Kingdom. We describe cases of species that never become old, other that show neglecting senescence and other that develop degenerative processes and decreased or absent fecundity with age. We also review the hypotheses that try to explain the evolutionary conservation of senescence processes that decrease the fitness of the animal as well as the physiological mechanisms involved in them.

Todos envejecemos, es un hecho bien conocido y más o menos asumido. Todos los humanos, se entiende. Pero ¿qué sucede con los animales? Ya podemos adelantar que no hay una respuesta sencilla a esta pregunta. Es cierto que los animales más cercanos a nuestras vidas envejecen. Sucede con los perros, los gatos, los caballos... Todos sufren achaques parecidos a los nuestros en la etapa avanzada de sus vidas. Esta constatación está incluso en el refranero popular: «A perro viejo, todo se le vuelven pulgas». Pero los casos citados corresponden a mamíferos, animales próximos a los humanos desde el punto de vista evolutivo. ¿Qué sucede con las aves, o los reptiles? ¿Envejecen los peces, los moluscos o los insectos? Se ha llegado a afirmar que en la vida salvaje no existe el envejecimiento en la práctica (esto fue sugerido por biólogos como Peter Medawar y Alex Comfort en los años 50), pero esta idea ha quedado superada^[1].

Como decimos, estas preguntas no tienen respuestas simples. Pero es necesario empezar por definir lo que entendemos por «envejecimiento» cuando tratamos de animales que tienen diferentes tipos de ciclo vital y diferentes duraciones de sus vidas. Por un lado, podemos definir el envejecimiento como un declive irreversible en logros fisiológicos tales como la fecundidad, el movimiento o la capacidad de respuesta a estímulos. Por otro lado podemos reconocer el envejecimiento en el deterioro a nivel orgánico y tisular: esqueleto menos resistente, sustitución de

músculo por tejido fibroso o adiposo, desgaste de elementos (senescencia mecánica)... Una tercera forma de valorar el envejecimiento, consecuencia de las anteriores, es el incremento de la tasa de mortalidad con la edad. En los humanos, por ejemplo, la probabilidad de fallecimiento se dobla cada ocho años a partir de los treinta, y esto es un claro indicador del declive fisiológico. Por tanto existe un envejecimiento «fisiológico» que afecta al individuo y un envejecimiento «demográfico» que afecta a la forma en que el individuo contribuye a la población, por su presencia y su contribución a la descendencia.

Un segundo punto que debemos tratar previamente es la causa del envejecimiento en los animales. Si los animales envejecen y esto es perjudicial para ellos... ¿A qué es debido? La respuesta obvia es que con el tiempo se produce un deterioro a nivel celular y molecular. El DNA acumula mutaciones, las moléculas orgánicas sufren alteraciones (p.e. oxidación de lípidos) y en general la maquinaria celular se deteriora. Pero si asumimos esto, tenemos que explicar la causa de que organismos eucariotas unicelulares se reproduzcan por división y sean potencialmente inmortales, sin signos de deterioro. Incluso líneas celulares humanas immortalizadas, como las célebres células HeLa, se reproducen indefinidamente sin que aparezcan las alteraciones citadas. Por tanto, a nivel celular el envejecimiento no parece ser algo inevitable y fuera de control. Y como veremos más adelante,

tampoco lo es necesariamente a nivel de los individuos.

El envejecimiento, por tanto, no es estrictamente inevitable, por lo que existen diversos modelos para explicar que los mecanismos evolutivos hayan «permitido» procesos que a la larga perjudican el éxito reproductivo y por consiguiente la aptitud del individuo. El artículo de Antonio Diéguez en este mismo número extraordinario de Encuentros en la Biología pasa revista a estos modelos. Aquí apuntaremos brevemente a la hipótesis de la pleiotropía antagonística, que propone que determinados genes que aumentan la probabilidad de supervivencia y reproducción en una primera fase de la vida terminan perjudicando a largo plazo al individuo. Los intereses individuales a largo plazo quedarían de esta forma sacrificados a la eficacia reproductiva. Ejemplos que apoyan este modelo son mutantes de falta de función de determinados genes que aumentan la longevidad de sus portadores a cambio de perjudicar su fecun-

dididad. Es el caso del gen *Daf-2* de *Caenorhabditis elegans*, el ortólogo del gen *Igf1* de vertebrados^[2,3,4].

Otra hipótesis que explica el envejecimiento es la del soma desechable. La idea es que el compartimento somático de los animales es simplemente un medio usado por las células germinales para su multiplicación. Una vez realizado este proceso, la persistencia del soma sería más bien un estorbo para las siguientes generaciones de líneas germinales, ya que competiría con los somas que han desarrollado las mismas. De esta forma el envejecimiento sería un proceso programado de «autodestrucción» u «obsolescencia programada» selectivamente ventajoso para la propagación de la línea germinal.

Probablemente haya una parte de verdad en todos estos modelos, pero la casuística tan extraordinariamente variada que nos ofrece el Reino Animal (a pesar de que todavía conocemos poco sobre el tema) nos muestra que será casi imposible elaborar una «teoría unificada del envejecimiento animal» (Figura 1)^[5]. Pasemos a los hechos que apoyan esto.

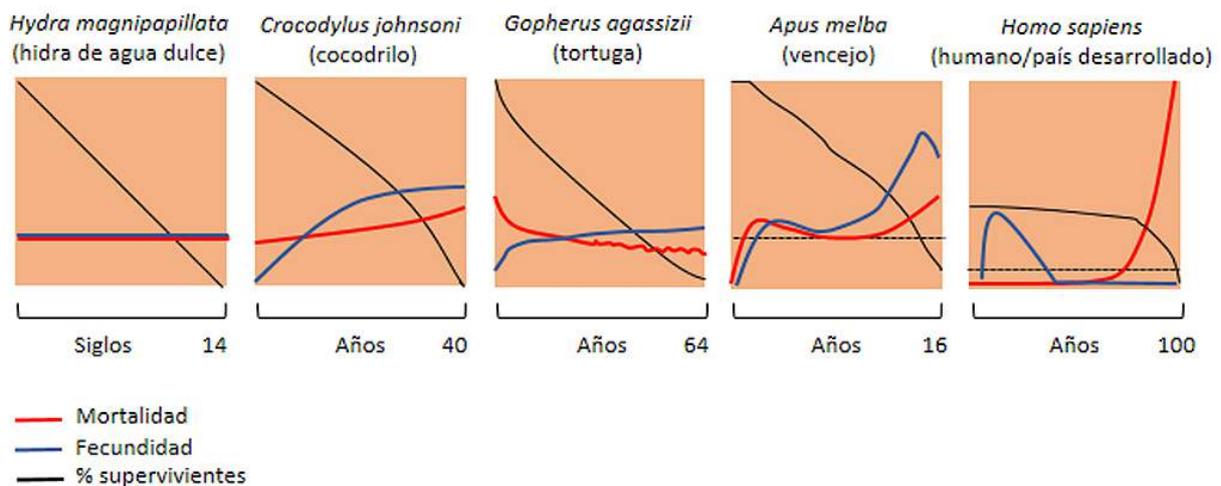


Figura 1. Distintos modelos de envejecimiento en el reino animal. Se muestra la evolución, a lo largo del tiempo, de la fecundidad, la mortalidad y el porcentaje superviviente de la población en un momento dado. El envejecimiento «típico» cursa con un aumento marcado de la tasa de mortalidad y una disminución o desaparición de la fecundidad, como ocurre en humanos. Obsérvese la diferencia con los otros patrones. Modificado de Jones y otros. (referencia 5).

Resulta muy complicado hablar no sólo de envejecimiento sino de duración de la vida cuando nos referimos a las esponjas o los cnidarios. En las esponjas el concepto de individuo es muy elástico, dado que estos animales conservan un alto grado de independencia celular. Es posible fragmentarlas o fusionarlas y seguirán funcionando. Los cnidarios tienen una alta capacidad de regeneración y reproducción asexual. La hidra de agua dulce, en particular, no

registra un aumento significativo de mortalidad ni disminución de fecundidad a lo largo del tiempo. Se trata de un organismo formado por muy pocos tipos celulares, una alta proporción de células madre y una alta tasa de renovación celular, y que además no separa los compartimentos somático y celular. Esto ha llevado a calcular que en condiciones favorables, el 5% de los individuos de una población seguirían vivos ¡después de 1400 años! (Figura 2)^[6].



Figura 2. La hidra de agua dulce carece de procesos de envejecimiento. Se ha estimado que tras 1400 años, alrededor de un 5 % de la población original sobreviviría en condiciones favorables. Imagen de dominio público. Fuente: Oinari-san.

El ya citado *C. elegans* se ha convertido en un interesante modelo para el estudio de la senescencia. Esto parece paradójico en un organismo que no vive más allá de dos semanas. Pero *C. elegans* es capaz de entrar en una fase llamada *Dauer*, en la que se produce una detención del desarrollo. Esto es provocado tanto por ayuno como por superpoblación. Lo curioso es que la fase *Dauer* parece detener el reloj vital del gusano, que ve prolongada su longevidad. De la misma forma manipulaciones genéticas, como la mencionada pérdida de función de *Daf-2*, y de otros genes cuyos productos controlan el transporte de electrones, aumentan la longevidad de *C. elegans*.

Saltando a los insectos, otro modelo en investigaciones sobre envejecimiento animal es *Drosophila*. Del mismo modo antes citado, el silenciamiento parcial de genes relacionados con el transporte de electrones aumenta la longevidad de estas moscas en un 10-20 %, sin perjudicar la producción de ATP o la fecundidad^[7]. La inhibición farmacológica del eje Ras-Erk-Ets con el inhibidor Trametinib también aumenta la longevidad^[8]. Más controversia existe sobre la relación entre especies reactivas de oxígeno (ROS) y longevidad en *Drosophila*, ya que se han publicado resultados contradictorios al respecto^[9]. Más adelante volveremos sobre el tema de la respiración mitocondrial, los radicales libres y la longevidad.

Frente al corto periodo de vida de *Drosophila*, aún más corto en otros insectos como las proverbiales efémeras, se ha descrito que en langostas marinas

no hay signos de declive fisiológico o reproductivo con la edad, algo que se ha relacionado con una alta actividad de la telomerasa en todos sus órganos^[10]. A esto se le conoce como «senescencia insignificante» o desdeñable, y volveremos a mencionarla en otros casos. También existe una parada del reloj vital en especies que entran en diapausa o quiescencia. Esto es espectacular en el caso del crustáceo *Artemia salina*. A pesar de una vida media de seis meses, sus quistes de resistencia pueden sobrevivir mucho tiempo. Hay evidencias de quistes de *Artemia* que se han reactivado después de 300 años. Esto no sorprende tanto como el hecho de que el metabolismo de estos quistes sea prácticamente nulo.

Y sorprendente es también la diferencia de longevidad entre individuos de una misma especie (polifernismo). Esto es especialmente notable en hormigas. Las hormigas reinas pueden vivir quince años, y esto es cien veces más de lo que viven sus hijas, las obreras. Esta diferencia puede ser achacada al diferente régimen alimenticio o al menor desgaste mecánico que sufre la inmóvil reina. En ocasiones la muerte de la hormiga reina se produce tras el declive en la fecundidad, que no está causado por la pérdida de ovocitos sino por el agotamiento de la reserva espermática original. En esta situación la reina muere o es asesinada por las obreras. La senescencia de las hormigas obreras se correlaciona bien con la de las abejas obreras. Hay estudios que muestran un declive en su capacidad de obtener alimento cuando aumenta su edad.

Entre los Lophotrochozoa, la otra gran rama de los Protóstomos, encontramos todo tipo de casos. La mayor longevidad registrada en un invertebrado corresponde al bivalvo *Arctica islandica*. Se han encontrado individuos con más de 400 años de edad. Otro bivalvo del ártico, *Margaritifera*, alcanza los 190 años de edad. Se ha relacionado esta extraordinaria longevidad con características muy específicas, temperaturas muy bajas, privación calórica estacional, altos niveles de enzimas antioxidantes o incluso ambiente hipóxico, lo que lleva a una depresión metabólica. Se ha señalado también los altos niveles de autofagia celular que podría llevar a una renovación acelerada de los tejidos.

Se ha descrito senescencia insignificante en otros organismos como pulpos o erizos de mar (*Strongylocentrotus*), aunque los estudios disponibles son muy escasos. Pero nos interesaremos ahora por los vertebrados, comenzando por los peces. En estos animales encontramos casos de senescencia insignificante entre los tiburones, los esturiones y algunos teleosteos como *Sebastes*. En las platijas (*Pleuronectes*) se ha descrito senescencia en el macho, pero no en la

hembra, que muestra crecimiento continuo y alcanza grandes tamaños. Es bien conocida la longevidad de las carpas chinas (*Koi*) a las que en algún caso se les ha atribuido una edad máxima de 226 años. Una anguila permaneció en un estanque de Suecia desde 1859 hasta 2014 (175 años). Pero el récord de longevidad en un vertebrado, publicado justo cuando escribíamos estas líneas, es el del tiburón de Groenlandia (*Somniosus microcephalus*) (Figura 3). Según un estudio basado en la detección en muestras del cristalino del pulso o «pico» de carbono-14 causado por las pruebas nucleares de los años 50 y 60 del siglo pasado, la media de edad de 28 ejemplares analizados fue de 272 años, pero dos de mayor tamaño (493 y 502 centímetros de longitud) dieron edades de 335 y 392 años, respectivamente, con un error de ± 120 años. Pero el dato más fascinante es la edad de la primera madurez sexual, que esta especie no alcanza hasta los 156 ± 22 años. Es decir, esta especie tarda alrededor de siglo y medio en alcanzar una edad que les permite reproducirse. ¡Una infancia interminable!

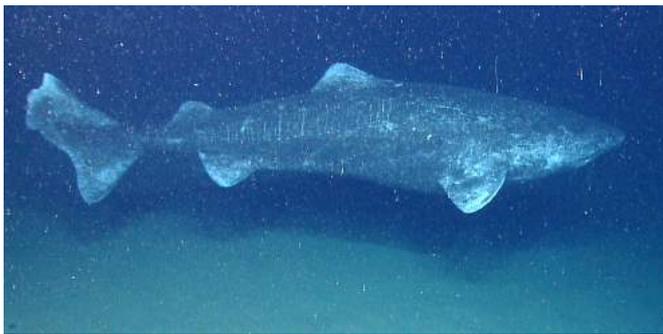


Figura 3. El tiburón de Groenlandia (*Somniosus microcephalus*). Este es el vertebrado más longevo conocido, ya que se ha estimado la edad de algunos ejemplares en 400 años. Imagen de dominio público. Fuente: NOAA Okeanos Explorer Program.

Esto contrasta con el bien conocido caso del salmón, que sufre un deterioro fisiológico generalmente letal tras la freza. De hecho la castración del salmón duplica su esperanza de vida y se ha descrito un parásito que, alterando el programa hormonal del salmón, también aumenta su longevidad. Sorprendente es también el caso del *walleye* (*Sander vitreum*) un pariente americano de la lucioperca europea, cuya esperanza de vida puede variar en cinco veces dependiendo de la temperatura.

Faltan estudios sobre senescencia en anfibios. Sólo en la salamandra gigante (*Andrias japonicus*) se han estimado edades máximas en torno a los 55 años, sin aparente descenso en la fecundidad. Se piensa que no hay senescencia significativa en ranas y en algunos anfibios cavernícolas.

La situación en los reptiles es muy variada. En general las lagartijas muestran detención del crecimiento y senescencia, pero no sucede lo mismo con muchas tortugas, en particular las tortugas gigantes de las Galápagos. Existe constancia de un ejemplar de 177 años de antigüedad, que se perdió por sólo cuatro años la visita de Darwin a las islas en 1835. En general la fecundidad de las tortugas se mantiene o aumenta con la edad. Lo mismo parece suceder con un superviviente de tiempos pasados, la tuatera de Nueva Zelanda (*Sphenodon*), que no alcanza la madurez hasta los diez años, y puede alcanzar al menos los 77 años de vida sin signos de senescencia. La longevidad de las tortugas se ha relacionado con mecanismos cerebrales de protección contra ROS^[11].

La misma variabilidad encontramos en las aves. Las gallináceas envejecen y su tasa de mortalidad aumenta con la edad, al tiempo que baja su fecundidad. Pero hay registros de cóndores andinos de 75 años, y aunque hay pocos datos fiables, láridos y psitácidos (gaviotas y loros) muestran pocos signos de senescencia. De todas formas en las aves el crecimiento es limitado, y este es un fenómeno que no suele darse conjuntamente con la senescencia insignificante.

Los mamíferos, finalmente, constituyen el grupo animal en el que la senescencia ha sido más estudiada a todos los niveles, por razones obvias. Y en líneas generales sabemos no sólo que los mamíferos envejecen, sino que además muestran los mismos signos de senescencia (declive en fecundidad, osteoporosis, artritis, daños vasculares y neurológicos...). Y en todos la tasa de mortalidad aumenta con la edad. Un caso particular de senescencia mecánica es el desgaste dentario en grandes herbívoros, que puede llevarles a la muerte por malnutrición. Esto sucede en elefantes o hipopótamos.

Entre los mamíferos encontramos casos sorprendentes relacionados con la senescencia. El macho del ratón marsupial *Antechinus* sufre una «intoxicación» de hormonas sexuales que le resulta letal, no antes de haber ejercido una actividad sexual desenfrenada. Su castración aumenta su esperanza de vida entre dos y tres veces. La rata topo desnuda (*Heterocephalus glaber*), que ha sido protagonista de dos artículos en Encuentros en la Biología ([Algunas curiosidades sobre la vida y la muerte](#) y [El sorprendente caso de la rata sin cáncer](#)) muestra una esperanza de vida desproporcionada con su tamaño, que alcanza los 30 años, además de una insólita resistencia al cáncer. Un caso similar existe entre los murciélagos, ya que *Myotis*, con sólo 10 gramos de peso, llega a los 34 años de edad. De hecho, estos dos casos son excepciones notables a la correlación inversa que se registra en general entre la edad máxima y la masa

corporal (véase la web senescence.info citada al final de este artículo), y que se ajusta a la curva:

$$EdadMax. = 5,58MC^{0,146}(r^2 = 0,34)$$

Puede comprobarse que una persona de 80 kilos debería tener una esperanza de vida de... diez años y medio. Es claro que los humanos también somos excepcionales en cuanto a la esperanza de vida en relación con nuestro peso. De hecho son muy pocos los mamíferos que nos superan en edad máxima, entre ellos la ballena boreal (*Balaena mysticetus*), con casos acreditados de 211 años de edad.

Dado que los mamíferos representan un grupo relativamente homogéneo en lo que se refiere a la senescencia, debemos preguntarnos qué mecanismos son los que nos privan de una eterna juventud. Muchas evidencias apuntan de nuevo a las ROS, generadas por nuestra alta tasa metabólica. Pero los marsupiales viven menos que los placentados a pesar de su menor tasa metabólica y su menor temperatura corporal. El metabolismo de aves y murciélagos es muy alto, y no son grupos caracterizados por senescencia acelerada o menor duración de vida en relación a su tamaño. Cabe pensar que en estos grupos se hayan desarrollado mecanismos antioxidantes específicos. Y tampoco se deben descartar efectos beneficiosos de las ROS en la inducción de mecanismos de defensa celular, una respuesta mitocondrial conocida como mitohormesis^[9,12].

Los ratones nos pueden proporcionar pistas acerca de los mecanismos de senescencia en mamíferos. Es muy conocido el aumento del periodo vital en ratones sometidos a restricción calórica, un fenómeno que parece ser universal entre los animales. En los ratones la esperanza de vida puede aumentar hasta el 50% si las calorías se reducen un 60%, aunque esta dieta disminuye mucho la actividad de los animales. Las cepas murinas *Ames* y *Snell* presentan mutaciones en determinados factores de transcripción que causan deficiencias en Gh, LH, TH y secundariamente en IGF1. Estos ratones viven alrededor de un 65% más que las cepas silvestres. Los ratones hemicigotos para IGF1 viven un 26% más, y resisten mejor el estrés oxidativo. También viven más los ratones con sobreexpresión de catalasa humana en mitocondrias^[13], los deficientes en SURF1 (factor de ensamblaje del complejo IV de la cadena de transporte de electrones) y los hemicigotos para *Clk1*, una enzima mitocondrial que interviene en la síntesis de ubiquinona y por tanto en la cadena de transporte de electrones (revisado en^[14]).

La respiración celular, por tanto, parece estar muy relacionada con la senescencia. Cuando se comparan células similares, en concreto hepatocitos, se registra una correlación inversa entre el consumo de oxígeno y la longevidad de la especie de la que se obtuvieron dichos hepatocitos^[15].

Evidentemente, un retraso del envejecimiento no puede pasar por dejar de respirar, pero toda la evidencia de la que disponemos lleva a una recomendación tan conocida y repetida como poco seguida. Aumentaremos nuestras posibilidades de una vida larga y sana si adoptamos estilos de vida saludables, alimentación hipocalórica y rica en antioxidantes naturales, ejercicio físico y mental. Siempre, si se quieren soluciones más radicales, se puede seguir esta receta: pasar hambre, pasar frío y extirparse las gónadas. Es posible que así se viva más, pero ¿merecería la pena?

Referencias

- ¹Nussey DH y otros. *Senescence in natural populations of animals: widespread evidence and its implications for biogerontology*. Ageing Res Rev 12:214-25, 2013.
- ²Dorman JB y otros. *The age-1 and daf-2 genes function in a common pathway to control the lifespan of Caenorhabditis elegans*. Genetics 141:1399-406, 1995.
- ³Tissenbaum HA y Ruvkun G. *An insulin-like signaling pathway affects both longevity and reproduction in Caenorhabditis elegans*. Genetics 148:703-17, 1998.
- ⁴Gami MS y Wolkow CA. *Studies of Caenorhabditis elegans DAF-2/insulin signaling reveal targets for pharmacological manipulation of lifespan*. Aging Cell 5:31-7, 2006.
- ⁵Jones OR y otros. *Diversity of ageing across the tree of life*. Nature 505:169-73, 2014.
- ⁶Schaible R y otros. *Constant mortality and fertility over age in Hydra*. Proc Natl Acad Sci 112:15701-6, 2015.
- ⁷Copeland JM y otros. *Extension of Drosophila life span by RNAi of the mitochondrial respiratory chain*. Curr Biol 19:1591-8, 2009.
- ⁸Slack C y otros. *The Ras-Erk-ETS-signaling pathway is a drug target for longevity*. Cell 162:72-83, 2015.
- ⁹Klapper W y otros. *Longevity of lobsters is linked to ubiquitous telomerase expression*. FEBS Lett 439:143-6, 1998.
- ¹⁰Lutz PL y otros. *Is turtle longevity linked to enhanced mechanisms for surviving brain anoxia and reoxygenation?* Exp Gerontol 38:797-800, 2003.
- ¹¹Ristow M y Schmeisser S. *Extending life span by increasing oxidative stress*. Free Radic Biol Med 51:327-36, 2011.
- ¹²Yun J y Finkel T. *Mitohormesis*. Cell Metab 19:757-66, 2014.
- ¹³Schriner SE y otros. *Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria*. Science 308:1909-11, 2005.
- ¹⁴Bartke A. *New findings in gene knockout, mutant and transgenic mice*. Exp Gerontol 43:11-4, 2008.
- ¹⁵Stuart JA y Brown MF. *Energy, quiescence and the cellular basis of animal life spans*. Comp Biochem Physiol 143:12-23, 2006.

¿PODRÍA LA RESTRICCIÓN CALÓRICA PROLONGAR LA VIDA EN HUMANOS?

por PABLO GARCÍA-BARRANQUERO*, ANA SORIANO-ARROQUIA†

*CONTRATO DE INVESTIGACIÓN FPU DEL MEDC, ESTUDIANTE DE DOCTORADO EN EL DEPARTAMENTO DE FILOSOFÍA, ÁREA DE LÓGICA Y FILOSOFÍA DE LA CIENCIA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA, ESPAÑA, 29071, MÁLAGA

† MRC-ARTHRITIS RESEARCH UK CENTRE FOR INTEGRATED RESEARCH INTO MUSCULOSKELETAL AGEING (CIMA) PhD STUDENTSHIP, INSTITUTE OF AGEING AND CHRONIC DISEASE, UNIVERSITY OF LIVERPOOL, REINO UNIDO, WILLIAM HENRY DUNCAN BUILDING, 6 WEST DERBY STREET, LIVERPOOL

PABLOGARCIA@UMA.ES

Palabras clave: envejecimiento, restricción calórica, extensión de la vida, vida máxima
Keywords: aging, caloric restriction, life extension, lifespan

Enviado: 8 de Octubre de 2016
Aceptado: 2 de Noviembre de 2016

La restricción calórica, o la reducción de la ingesta calórica sin malnutrición, es actualmente una de las intervenciones más interesantes y controvertidas en el campo de la biogerontología. Es conocida por ser la única que extiende la *vida máxima* en una amplia gama de especies, incluyendo mamíferos. Varios experimentos han demostrado la eficacia de la restricción calórica. Sin embargo, los efectos secundarios y las implicaciones a largo plazo están aún por determinar en los humanos. A continuación exponemos algunos de los experimentos más importantes realizados hasta el momento en mamíferos y discutimos sobre el impacto potencial que este tipo de intervenciones tendrían en la sociedad futura.

Caloric restriction, or the reduction of caloric intake without malnutrition, is nowadays one of the most exciting and controversial interventions in the biogerontology field. It is known to be the only one to extend lifespan in a wide range of species, including mammals. Several experiments have proven the effectiveness of caloric restriction. However, its side effects and long-term implications in humans are still to be determined. Here, we collect some of the most important experiments done so far in mammals and discuss about the potential impact that this kind of intervention would have in the future society.

Osborne y sus colaboradores^[1] publicaron en 1917 un artículo en *Science* en el cual demostraban que una disminución en la ingesta de alimentos en ratas era capaz de desacelerar su crecimiento y de aumentar la duración de sus vidas. Casi dos décadas después, más concretamente en los años 30, McCay y Crowell^[2] observaron que las ratas de laboratorio que se alimentaban con una dieta fuertemente reducida en calorías, manteniendo los nutrientes vitales para su existencia, aumentaban su longevidad dos veces más de lo esperado. Tuvo que pasar bastante tiempo para que Walford y su brillante alumno Weindruch^[3] llegaran a la conclusión de que la restricción de la ingesta calórica en los ratones de laboratorio incrementaba su longevidad en comparación con un grupo de ratones con una dieta normal. Incluso, y es lo más interesante, estos ratones llegaron a: i) mantener una apariencia juvenil durante más tiempo; ii) ampliar sus niveles de actividad; iii) disminuir la aparición de enfermedades asociadas al envejecimiento. La intervención para prolongar la vida a través de la restricción de la ingesta de alimentos se denominó inicialmente como *restricción alimenticia*, más tarde se utilizó el término, bastante vago desde un punto de vista científico, *restricción dietética*, para finalmente afianzarse, con un mayor rigor conceptual, el de *res-*

tricción calórica^[4]. La *restricción calórica* (a partir de ahora RC) en la actualidad se define como la reducción drástica de la ingesta calórica sin entrar en proceso de malnutrición^[5]. Kirkwood, científico conocido por su famosa «Teoría del soma perecedero» (*Disposable Soma Theory*) del envejecimiento, dice lo siguiente:

«La *restricción alimentaria*, también llamada «*subalimentación sin malnutrición*», proporciona todos los nutrientes necesarios, pero con un aporte energético total reducido. Durante muchos años se ha estado discutiendo acerca de la importancia relativa de las reducciones de proteínas, grasas y carbohidratos, pero las investigaciones más recientes indican que esto importa poco. Mientras no falten los nutrientes esenciales, da lo mismo que la restricción se deba a las grasas, los carbohidratos o las proteínas. Lo que cuenta son las calorías^[6].»

La RC es uno de los temas más controvertidos y apasionantes de la biología del envejecimiento^[7]. Es la única intervención que ha demostrado tener la capacidad de prolongar la vida en diferentes animales: desde moscas, peces o pulgas de agua hasta algunos mamíferos cercanos evolutivamente al ser humano como pueden ser hámsteres, monos *Rhesus* y algunas cepas de ratas y ratones. Existen una serie de

experimentos en ratas que han demostrado que solo la RC es capaz de prolongar tanto la *esperanza de vida media* como la *vida máxima*; mientras que otras intervenciones, como el ejercicio físico a largo plazo, son capaces de alargar la *esperanza de vida media*, pero no la *vida máxima*^[8]. Aubrey de Grey^[9] comparte esta idea. Él considera que la RC es una intervención que incide en la manipulación ambiental pero no en los niveles que él denomina como retardación (retraso) o reversión del envejecimiento. Sostiene que se deben incluir en este primer nivel, al igual que una dieta como la que describimos más adelante, los siguientes tratamientos: el hecho de pasar (más) hambre y frío, una disminución de la respiración o el consumo de jalea real.

Sin embargo, estudios más recientes constatan que una RC en la que, particularmente, las proteínas se ven altamente reducidas, tiene mayor efecto en la *esperanza de vida* tal y como se ha visto en ratones. Una RC baja en proteínas y rica en hidratos de carbono aumenta un 20 % la *esperanza de vida* en estos animales mediante la reducción de estrés mitocondrial y radicales libres que producen daño celular^[10]. Esto explicaría por qué la isla japonesa de Okinawa comprende la población con mayor proporción de centenarios del mundo (185 por millón), ya que, su dieta, aparte de un menor contenido calórico en comparación con los principales países europeos y Estados Unidos, está basada en una proporción de ingesta de proteína muy inferior a la de carbohidratos. Los habitantes de Okinawa consumen, por término medio, solo el 80 % de las calorías que ingiere el resto de la población japonesa. El menú contiene, principalmente, aceites de pescado, vegetales y productos derivados de la soja^[6]. Si consideramos una dieta de mantenimiento típica para un varón que trabaje de 2000 calorías diarias (con ejercicio físico muy moderado), habría que comenzar a reducir su ingesta hasta las 1600 calorías. Algo probablemente poco viable y con posibles efectos secundarios, al menos a corto plazo, en la productividad y en la salud física y mental de los trabajadores; efectos como la sensación de hambre, irritabilidad, flaqueza y bajo estado de ánimo^[11,12]. Las repercusiones que podría tener este tipo de intervenciones a largo plazo en la sociedad estarían por determinarse.

A pesar de todo, existe aún cierta controversia respecto a los potenciales beneficios que la RC podría tener en primates. A día de hoy, dos estudios independientes se están llevando a cabo en monos *Rhesus*. Aunque quedan años para obtener los resultados finales, los datos preliminares indican que un 50 % de RC parece tener efectos positivos en la salud de los monos: reduce el riesgo de padecer enferme-

dades cardiovasculares y cáncer, previene la diabetes mellitus tipo 2 y atenúa la pérdida de músculo asociado al envejecimiento, aparte de un evidente mejoramiento físico en comparación con monos ancianos sometidos a una dieta normal. No obstante, ambos estudios muestran contradicciones en cuanto al efecto que la RC podría tener en la *esperanza de vida*: uno asegura que la RC aumenta la vida de los monos, mientras que el otro estudio no constata diferencias significativas en comparación con el grupo control^[13,14].

Además, para que los efectos de la RC no sean negativos, esta no se debería realizar en las primeras etapas del desarrollo del individuo (en seres humanos sería muy poco aconsejable, ya que pueden aparecer serios problemas como la atrofia en el crecimiento o el retraso en la maduración del sistema nervioso). Al menos así lo corroboran estudios en ratones C57BL/6J, en los que se ha visto que hay un aumento de la mortalidad cuando se produce un 40 % de RC en ratones sexualmente inmaduros; sin embargo, si la RC al 40 % se realiza cuando los ratones ya son adultos y sexualmente maduros, la *vida máxima* aumenta un 15 %^[15,16]. Curiosamente, otros estudios indican que la RC puede prolongar la vida hasta un 40 % en ratas independientemente de si la reducción de ingesta diaria es del 10 % o del 40 %^[17]. Ambos difieren únicamente en que la RC al 10 % no disminuye la incidencia de neoplasia o desarrollo de tejido anormal que puede dar lugar a tumores, aunque una excesiva RC incrementa las probabilidades de mortalidad. Esto demostraría que la intensidad a la que se lleva a cabo la RC no es proporcionalmente directa al efecto que pueda tener en la *esperanza de vida*.

Con el paso del tiempo se constatará si el éxito que está lográndose en organismos modelo (y sus efectos positivos) se podrá trasladar a nuestra especie. Luigi Fontana, co-director del *Longevity Research Program* de la Universidad de Washington en St. Louis, es bastante claro, aunque precavido, al respecto:

«[...] No te puedo decir si mis sujetos vivirán hasta los 130. Ni tampoco nada de muchos factores incontrolables que afectan a la duración de la vida. No tengo evidencias suficientes para probar que estas personas envejecen más lentamente, pero eso parece.»

Efectivamente, todo parece indicar que la RC tiene igualmente efectos positivos en humanos tanto en salud como en *esperanza de vida*, aunque los efectos secundarios y los mecanismos genéticos y moleculares que dan explicación a este proceso siguen en investigación^[18].

Sin embargo, sería interesante tener en consideración si un estilo de vida que incorpore como fundamento principal intervenciones similares o próximas a la RC, serviría para fomentar el buen uso y un consumo responsable de los recursos primarios alimenticios, así como un modo de vida más saludable, independientemente de si realmente la RC pueda o no prolongar la vida en los seres humanos.

Referencias

- ¹Osborne TB y otros. *The effect of retardation of growth upon the breeding period and duration of life of rats*. Science 45(1160): 294-295, 1917.
- ²McCay C y otros. *The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size*. J Nutr 10(1): 63-79, 1935.
- ³Weindruch R y otros. *The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake*. J Nutr 116(4): 641-654, 1986.
- ⁴Masoro EJ. *Overview of caloric restriction and ageing*. Mechanisms of ageing and development 126(9): 913-922, 2005.
- ⁵López-Otín C y otros. *Metabolic Control of Longevity*. Cell 166(4): 802-821, 2016.
- ⁶Kirkwood, T. *El fin del envejecimiento*. Ciencia y longevidad. Barcelona: Metametas, 2000.
- ⁷Masoro EJ. *Caloric restriction and aging: an update*. Experimental gerontology 35(3): 299-305, 2000.
- ⁸Holloszy, JO. *Mortality rate and longevity of food-restricted exercising male rats: a reevaluation*. Journal of Applied Physiology 82(2): 399-403, 1997.
- ⁹de Grey AD y otros. *Is human aging still mysterious enough to be left only to scientists?* BioEssays 24(7): 667-676, 2002.
- ¹⁰Pamplona R y Barja G. *Mitochondrial oxidative stress, aging and caloric restriction: the protein and methionine connection*. Biochim Biophys Acta 1757(5-6): 496-508, 2006.
- ¹¹Hambly C y otros. *Hunger does not diminish over time in mice under protracted caloric restriction*. Rejuvenation research 10(4): 533-542, 2007.
- ¹²Zhang Y y otros. *The Effects of Calorie Restriction in Depression and Potential Mechanisms*. Current Neuropharmacology 13(4): 536-542, 2015.
- ¹³Kemnitz JW y otros. *Dietary restriction of adult male rhesus monkeys: design, methodology, and preliminary findings from the first year of study*. J Gerontol 48(1): B17-26, 1993.
- ¹⁴Lane MA y otros. *Caloric restriction in primates*. Ann N Y Acad Sci 928: 287-295, 2001.
- ¹⁵Harrison DE y Archer JR. *Genetic differences in effects of food restriction on aging in mice*. J Nutr 117(2): 376-382, 1987.
- ¹⁶Pugh TD y otros. *Dietary intervention at middle age: caloric restriction but not dehydroepiandrosterone sulfate increases lifespan and lifetime cancer incidence in mice*. Cancer Res 59(7): 1642-1648, 1999.
- ¹⁷Richardson A y otros. *Significant life extension by ten percent dietary restriction*. Ann N Y Acad Sci 1363: 11-17, 2016.
- ¹⁸Gillespie ZE y otros. *Better Living through Chemistry: Caloric Restriction (CR) and CR Mimetics Alter Genome Function to Promote Increased Health and Lifespan*. Front Genet 7: 142, 2016.

LA LUCHA CONTRA EL ENVEJECIMIENTO: UN PROBLEMA CIENTÍFICO Y FILOSÓFICO

por ANTONIO DIÉGUEZ

CATEDRÁTICO DE LÓGICA Y FILOSOFÍA DE LA CIENCIA, UNIVERSIDAD DE MÁLAGA

DIEGUEZ@UMA.ES

Palabras clave: envejecimiento, selección natural, alargamiento de la vida, transhumanismo

Keywords: aging, natural selection, life extension, transhumanism

Enviado: 1 de Noviembre de 2016

Aceptado: 15 de Noviembre de 2016

No hay por el momento una explicación simple y unánimemente aceptada de las causas del envejecimiento. Es posible que no exista siquiera una explicación única, y que las causas del envejecimiento tengan orígenes muy diversos. No obstante, el avance en el conocimiento de estas causas, por diversas que sean, abren las puertas para proporcionar un alargamiento significativo de la vida. Pero esto genera preguntas de orden moral y social a las que conviene encontrar respuestas.

Up to now there is no simple and unanimously accepted explanation about the causes of aging. Maybe, there is no single explanation for them because these causes could have very different origins. Nevertheless, the advance in the knowledge of these causes, however diverse as they are, opens the door to the possibility of a significant extension of life. But all that raises a number of moral and social questions which should be satisfactorily answered.

De todos los anuncios y promesas que la filosofía transhumanista ha hecho en los últimos tiempos, y con los que tanta fama ha cobrado (el advenimiento de la singularidad, la sociedad de cíborgs, la creación de especies posthumanas, el volcado de la mente en máquinas. . .) el que quizás tenga más visos de cumplirse en los próximos años es el del alargamiento de la vida humana con ayuda de la biotecnología. En este campo al menos la investigación científica puede ofrecer resultados que, aunque incipientes, resultan prometedores^[1,2].

Después de todo, el envejecimiento no es una necesidad biológica inexorable, sino una contingencia que podría ser corregida. Es cierto que el segundo principio de la termodinámica nos enseña que todo sistema físico cerrado, como lo es el universo en su totalidad, llega con el tiempo al equilibrio térmico, y con ello se alcanza el fin de toda la complejidad. Los seres vivos, en tanto que sistemas abiertos, pueden resistir solo durante un tiempo la tendencia al desorden entrópico. Pero, aceptando que nada podrá escapar finalmente a ese destino, dentro de los límites temporales en los que cabe situar a la vida en nuestro planeta hay aún mucho margen temporal para jugar. Un organismo que viviera decenas o centenares de miles de años podría considerarse a los efectos que nos importan como inmortal.

Y el caso es que hay organismos que han sabido bregar bastante bien con el problema del envejecimiento. Las bacterias son un buen ejemplo. Se repro-

ducen asexualmente, dividiéndose en dos cuando las circunstancias son propicias, y parecen no envejecer, pues las dos células resultantes son prácticamente iguales y deberían tener la misma edad. Hoy sabemos que no es exactamente así, que en *E. coli*, por ejemplo, el polo de la bacteria original es heredado en cada división solo por una de sus descendientes, con lo cual ésta acumularía efectos del tiempo que la otra no portaría. Sin embargo, estas diferencias tienden a borrarse con posterioridad, puesto que son capaces de rejuvenecer, equilibrándose la edad en toda la población, que se convierte así en potencialmente eterna^[3]. Se dirá quizás que el caso de las bacterias es demasiado peculiar y lejano como para ilustrar nada de lo que pueda sucederle a los seres humanos. Pero hay más ejemplos a tomar en cuenta. Hay plantas, como la *Posidonia oceanica*, o ciertas coníferas, como la secuoya, el pino de Colorado o el pino longevo del sudoeste de los Estados Unidos, que viven durante miles de años. Hay animales, como las hidras, que tienen vidas de duración indefinida, o como las almejas de Islandia, las langostas, los esturiones, el pez koi o carpa china, las tortugas, los tiburones de Groenlandia o las ballenas boreales, de una longevidad asombrosa (multicentenaria en algunos casos), sobre todo en comparación con otros animales evolutivamente emparentados. Pueden encontrarse más ejemplos admirables en el artículo «[Envejecimiento animal](#)», de Rita Carmona, Ana Cañete y Ramón Muñoz-Chápuli, publicado en este mismo número.

Así que algo de negociable sí que parece haber en este asunto. Hay evidencias, además, de que las modificaciones epigenéticas hacen que los seres humanos envejecamos a diferentes velocidades con independencia del estilo de vida de cada uno^[4].

El envejecimiento no reporta ningún beneficio biológico al individuo; no aumenta su eficacia biológica, sino todo lo contrario, y por lo tanto no parece que pueda ser considerado un producto directo de la selección natural actuando en este nivel. La selección natural debería más bien haber favorecido mecanismos de reparación, regeneración y renovación de estructuras que impidieran que el éxito reproductivo de los individuos decreciera con el tiempo (aunque véase^[5] para una tesis contraria).

Podría pensarse, sin embargo, que el envejecimiento proporciona un beneficio a la especie, puesto que si ningún individuo muriera o pocos lo hicieran debido solo a factores extrínsecos, los recursos se acabarían pronto y la especie se extinguiría. La muerte de los individuos de las generaciones anteriores favorecería además que pudieran extenderse en la población las novedades evolutivas que contribuirían a la evolucionabilidad y a la pervivencia de la especie. Por tanto, si quisiéramos explicar como resultado directo de la selección natural la acumulación de daños moleculares, celulares, tisulares y orgánicos en los que consiste la vejez, daños que conducen a la merma de funciones biológicas y finalmente a la muerte, habría que recurrir a la selección actuando en el nivel de la especie.

Así lo han hecho, en efecto, algunos biólogos, como Alfred Russel Wallace, el codescubridor de la evolución por selección natural, y durante un tiempo August Weissmann, el padre del neodarwinismo. Pero también en este nivel la explicación resulta problemática. Para que un rasgo pueda ser considerado como producto de la selección de especies en sentido estricto, debe ser un rasgo propio no de los individuos, sino de la especie, como la tasa de especiación, el tamaño de las poblaciones o el rango de distribución geográfica y ecológica (un ejemplo muy citado es la estrategia larvaria planctónica y dispersa frente a la estrategia de concentración de larvas en los gasterópodos marinos^[6,7]). Pero el envejecimiento es un rasgo claramente individual.

Más plausibilidad tendría la atribución de la senescencia a la acción de la selección de grupos, y también hay propuestas interesantes en tal sentido^[8,9], pero de nuevo chocan con problemas. He aquí algunos: (i) las muy especiales condiciones que han de darse para que la selección de grupo funcione o tenga la suficiente intensidad (el coste debe ser bajo para los individuos, el aislamiento de las pobla-

ciones debe ser suficiente para impedir la invasión de «gorrones», el beneficio debe ser claro para los miembros del grupo y no para otros, etc.), (ii) la diversidad de mecanismos implicados en el envejecimiento, (iii) habría mecanismos más efectivos que el envejecimiento gradual para dejar sitio y recursos a las siguientes generaciones, y de hecho, ya existen en la naturaleza (depredación, enfermedades, etc.), (iv) la explicación se basa (y esto vale también para la explicación anterior) en que los individuos con más tiempo de vida son los que deben desaparecer porque son los más débiles, pero esto presupone lo que se trata de explicar, es decir, la existencia del envejecimiento. No obstante, como es sabido, muchas de las dificultades que presenta una explicación basada en la selección de grupo pueden esquivarse en gran medida si se acude a la selección de parientes (*kin selection*), es decir, si se supone que los grupos sobre los que está actuando la selección natural son muy pequeños y están genéticamente emparentados. Algunos estudios sobre envejecimiento en levaduras parecen apoyar esta idea^[10,11]. Sin embargo, Longo y sus colaboradores^[12] aducen que las poblaciones subsiguientes a la aplicación de las condiciones que desencadenan la muerte de los individuos más viejos apenas alcanzan en número de células el 10 % de la población original, lo que choca con la idea de que ese mecanismo obedece a la selección de parientes. En todo caso, la cuestión no está aún decidida.

Cabe también otra posibilidad, que además es por el momento la que recibe más apoyo entre los especialistas, aunque tampoco esté exenta de problemas. Podría considerarse que la acción de la selección natural en este caso no fuera directa, sino indirecta; o por decirlo de otro modo, el envejecimiento podría ser un subproducto de la selección, en lugar de ser un rasgo adaptativo. Como ya señaló a mediados del siglo XX Sir Peter Medawar, en muchos seres vivos, la fase reproductiva más activa suele ser poco tiempo después de alcanzar la madurez sexual. A medida que pasa el tiempo, debido a diversos factores, entre ellos el aumento de la probabilidad de padecer enfermedades o accidentes, o de ser cazados por los depredadores, en casi todas las especies –pero no en todas^[13]– la proporción de genes que los individuos aportan a las siguientes generaciones tiende a disminuir en el acervo genético de la población. En consecuencia, la selección natural se desentiende progresivamente de la suerte de los individuos a partir de ese punto. Aunque el deterioro que experimenten desde ese momento sea atroz, la selección natural no puede eliminar sus causas en las generaciones posteriores. Las variantes genéticas responsables del daño no sufren la suficiente presión selectiva en con-

tra. La selección solo podría eliminarlas si alguno de los efectos negativos se manifestara durante la fase juvenil y redujera el éxito reproductivo de los individuos que lo sufrieran. Pero si esto no ocurre, si esas variantes genéticas no manifiestan efectos negativos durante el periodo de mayor fecundidad de los individuos, pudiendo tratarse de mutaciones que se van acumulando solo tras ese periodo, o bien si, como propuso también a mediados del siglo pasado Georg Williams, se trata de genes pleiotrópicos que tienen efectos positivos en el éxito reproductivo durante la fase juvenil a cambio de tener efectos negativos para la salud del organismo en las fases posteriores, entonces la selección natural no puede evitar que los genes implicados se extiendan por la población (e incluso en los casos de la pleiotropía antagonista o de la competencia entre reproducción y reparación la selección favorecerá su difusión). En otras palabras, la selección natural no puede mejorar la condición en la que generaciones posteriores de estos organismos llegan a esas fases tras la madurez sexual. Es, pues, impotente ante los mecanismos de envejecimiento y ante la muerte^[9,14,15,16].

Quizás no sea posible una explicación única de todos los procesos de senescencia, y ciertamente por el momento no la hay, pero si el envejecimiento obedece a mecanismos biológicos contingentes –como casi todas las teorías propuestas mantienen–, por variados y complejos que éstos sean, y tanto si son producto directo de la selección natural como si no lo son, o si están programados genéticamente o no lo están (una breve discusión sobre si la muerte está o no programada puede leerse en [17] y [18]), su control y el control sobre la muerte «natural», es en principio posible. Situémonos en el caso más desfavorable para que los tratamientos anti-envejecimiento puedan funcionar eficazmente, esto es, en el caso de que los mecanismos de senescencia vengán codificados por genes con efectos pleiotrópicos, y por tanto una modificación en dichos genes para alargar la vida pueda tener efectos negativos sobre otras cualidades importantes en la vida de los humanos. Incluso en ese caso, los tratamientos anti-envejecimiento seguirían siendo posibles, si bien la dificultad para hacerlos funcionar aumentaría notablemente. Pero en ninguna de las alternativas contempladas cabe esperar soluciones fáciles. Si el envejecimiento es un subproducto de la selección natural, la cual carece de fuerza para impedir la acumulación de daños, el problema a vencer será la diversidad de los mecanismos responsables y la posible complejidad de algunos de ellos; si el envejecimiento es consecuencia de una programación genética incrustada en cada una de nuestras células y capaz de regular temporalmente la estructura glo-

bal del organismo, el problema será cómo controlar el programa evitando efectos indeseados. Lo único que hoy podemos afirmar con garantías es que la ciencia está avanzando muy rápidamente en la caracterización de esos mecanismos. Y si esto es así, no es un sueño descabellado, sino una aspiración justificable, el lograr en un futuro no muy lejano una prolongación sustancial de la vida humana. De esa forma lo ha debido de entender, por ejemplo, Google cuando en 2013 financió la creación de la empresa de biotecnología Calico Labs, dedicada a la investigación para la lucha contra el envejecimiento y las enfermedades con él asociadas. En 2015 dicha empresa recibió además el apoyo del MIT y de la Universidad de Harvard a través del instituto Broad.

Esta confianza parece haber recibido recientemente un jarro de agua fría con la publicación de un artículo en *Nature* en el que se establecía un límite para la duración de la vida humana en torno a los 120 años^[19]. Habrá que dar tiempo para que el debate científico se asiente y establezca si esta conclusión es correcta y significa que estamos ante un obstáculo insalvable para el alargamiento de la vida debido a causas biológicas o si se trata solo de un estancamiento debido a no disponer aún de la tecnología adecuada, habiendo entonces razones para mantener el optimismo. Los propios autores del artículo no se alinean con los más derrotistas, aunque señalan que la cuestión puede ser más compleja de lo previsto. El artículo, de hecho, termina con el siguiente párrafo:

«Extender la duración de la vida humana más allá de los límites impuestos por estos sistemas de aseguramiento de la longevidad requeriría intervenciones que fueran más allá de la mejora del periodo vida en buenas condiciones de salud (health span), algunas de las cuales está bajo investigación. Aunque no hay ninguna razón científica para que estos esfuerzos no puedan tener éxito, la posibilidad [de que lo tengan] está constreñida esencialmente por la miríada de variantes genéticas que determinan conjuntamente la duración de vida específica de una especie.»

Dicho todo esto, a nadie se le escapa que la ralentización (o la cura, como algunos dicen) del envejecimiento no es un asunto de interés exclusivamente biológico. Supongamos que la ciencia pudiera tener éxito en este proyecto y que es capaz alguna vez de pausar, detener, e incluso revertir los efectos del envejecimiento en los seres humanos. Supongamos que en un plazo no muy lejano puede garantizarnos (en ausencia de accidentes) la longevidad de la que gozan algunas ballenas o las tortugas, es decir, más de un centenar de años, y que con el progreso de los conocimientos en medicina regenerativa, pudié-

ramos incluso aspirar más adelante a una vida de duración indefinida. Son entonces diversos los interrogantes que cabría plantearse, si es que queremos tener bien pensados y sopesados los posibles efectos de una transformación tan radical de nuestras condiciones naturales. Tendríamos al menos que indagar sobre las siguientes cuestiones:

1. ¿Cómo podemos dotar de sentido y de contenido una vida de duración indefinida? ¿Cómo evitar el tedio producido por la inevitable repetición de acontecimientos y de experiencias? Llegaría un momento en que ya prácticamente nada se haría por primera vez. No es algo obvio cómo podría lograrse a partir de un cierto momento un grado aceptable de felicidad.
2. ¿Cómo mantener una identidad personal coherente y ligada a lo largo de una vida de duración largamente extendida? Una vida así obligaría a formar proyectos vitales sucesivos –ocupaciones, hobbies, amistades, objetivos, deseos, etc.– muy diferentes unos de otros en los que quizás el individuo terminara por no reconocerse como él mismo. Y si así fuera, surgiría entonces la pregunta de si debería importarme la existencia futura de un individuo que, aunque siga ocupando mi cuerpo, ya no tiene nada que ver con quien yo considero que soy.
3. ¿Qué relaciones sociales y familiares cabría esperar entre individuos cuyas vidas tuvieran una duración de varios siglos? No sabemos cómo nos relacionaríamos con nuestros hijos al cabo de 200 años, o cómo serían las relaciones de pareja si la convivencia tuviera que prolongarse mucho más tiempo del habitual hoy en día. Cabe la posibilidad de que un mundo poblado por seres humanos dotados de gran longevidad fuera también un mundo poblado por personas solitarias e insolidarias.
4. ¿Qué consecuencias tendría esto sobre el genoma humano, sobre las generaciones futuras y sobre el medio ambiente? Estos cambios podrían tener enormes efectos «secundarios», como la creación de nuevas especies humanas mediante manipulación genética, o la eliminación de la procreación para evitar la superpoblación, o un enorme deterioro medioambiental si ésta no se evita, o la disminución de la creatividad debido al envejecimiento de la mente en una población en la que ya no aparecen nuevos jóvenes, o la ruptura del sistema de seguridad social y el colapso del mercado de empleo.

5. ¿Qué implicaciones políticas y sociales tendría la aplicación de estas tecnologías? ¿Podría evitarse que el desigual acceso a ellas cree una clase de individuos biológicamente mejorados frente a otra clase que no reciba los beneficios de esa aplicación?

Como puede verse, los desafíos son enormes, y no pueden ser eludidos. Estas son cuestiones fundamentales que han comenzado ya a generar un intenso debate filosófico y han contribuido a revitalizar el campo de la filosofía aplicada^[20]. Pero es evidente que no son cuestiones que correspondan únicamente a los filósofos. Todos estamos preocupados.

Referencias

- ¹López-Otín C. y otros. The Hallmarks of Aging. *Cell*, 153, June 6: 1194-1217. 2013.
- ²Blasco MA y Salomone MG. *Morir joven, a los 140*. Barcelona: Paidós. 2016.
- ³Rang CU y otros. Temporal Dynamics of Bacterial Aging and Rejuvenation. *Current Biology*. 21: 1813-1816. 2011.
- ⁴Chen BH y otros. DNA Methylation-based Measures of Biological Age: Meta-analysis Predicting Time to Death. *Aging*, 8(9): 1844-1865. 2016.
- ⁵Ackermann M y otros. On the Evolutionary Origin of Aging. *Aging Cell*, 6: 235-244. 2007.
- ⁶Jablonski D y Hunt G. Larval Ecology, Geographic Range, and Species Survivorship in Cretaceous Mollusks: Organismic versus Species-level Explanations. *American Naturalist*, 168: 556-564. 2006.
- ⁷Jablonski, D. Species Selection: Theory and Data. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39: 501-524. 2008.
- ⁸Mitteldorf J. Chaotic Population Dynamics and the Evolution of Ageing. *Evolutionary Ecology Research*. 8: 561-574. 2006.
- ⁹Mitteldorf J. Evolutionary Origins of Aging, en G.M. Fahy, MD West, LS Coles y B Harris (eds.), *The Future of Aging. Pathways to Human Life Extension*. Dordrecht: Springer: 87-126. 2010.
- ¹⁰Herker E. y otros. Chronological Aging Leads to Apoptosis in Yeast. *The Journal of Cell Biology*. 164(4): 2004 501-507. 2004.
- ¹¹Fabrizio P. y otros. Superoxide is a Mediator of an Altruistic Aging Program in *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Cell Biology*, 166(7): 1055-1067. 2004.
- ¹²Longo VD y otros. Programmed and Altruistic Ageing. *Nature Reviews Genetics*, 6 (11): 866-872. 2005.
- ¹³Vaupel JW y otros. The Case for Negative Senescence. *Theoretical Population Biology*, 65(4): 339-351. 2004.
- ¹⁴Rose MR. *Evolutionary Biology of Aging*. Oxford: Oxford University Press. 1991.
- ¹⁵Klarsfeld A y Revah F. *The Biology of Death. Origins of Mortality*. Ithaca, NY: Cornell University Press. 2004.
- ¹⁶Goldsmith T. *The Evolution of Aging. How New Theories Will Change the Future of Medicine*. Crownsville: Azinet. 2014. [Disponible online](#)
- ¹⁷Blagosklonny MV. Aging is not Programmed. Genetic Pseudo-program is a Shadow of Developmental Growth. *Cell Cycle*, 12(24): 3736-3742. 2013.
- ¹⁸Tosato M. y otros. The aging process and potential interventions to extend life expectancy. *Clinical Interventions in*

Aging, 2(3): 401-412. 2007.

¹⁹Dong X y otros. Evidence for a Limit to Human Lifespan. *Nature*, doi:10.1038/nature19793. 2016.

²⁰Temkin LS. Is Living Longer Living Better? *Journal of Applied Philosophy*. 25(3): 193-210. 2008.

ENVEJECIMIENTO CEREBRAL: ¿UN PROCESO IRREVERSIBLE?

por ANTONIA GUTIÉRREZ

DPTO. BIOLOGÍA CELULAR, GENÉTICA Y FISIOLÓGIA. ÁREA DE BIOLOGÍA CELULAR. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. CAMPUS DE TEATINOS 29071. MÁLAGA (ESPAÑA). CATEDRÁTICA DE BIOLOGÍA CELULAR E INVESTIGADORA PRINCIPAL DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE MÁLAGA (IBIMA) Y DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA EN RED SOBRE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS (CIBERNED).

AGUTIERREZ@UMA.ES

Palabras clave: envejecimiento, cerebro, memoria, Alzheimer, parabiosis
Keywords: aging, brain, memory, Alzheimer, parabiosis

Enviado: 2 de Diciembre de 2016
Aceptado: 2 de Diciembre de 2016

La población mundial está envejeciendo rápidamente. El envejecimiento cerebral conlleva un deterioro de la memoria y la función cognitiva, que no se asocian con una pérdida masiva de neuronas sino con cambios sinápticos y con una reducción de la población de células madres/progenitoras neurales y del proceso de neurogénesis. La edad es el principal factor de riesgo para desarrollar la enfermedad de Alzheimer (AD), un trastorno neurodegenerativo devastador que culmina en un estado de demencia y total dependencia de los pacientes y para el cual aún no existe un tratamiento farmacológico efectivo. El número de personas mayores de 80 años se triplicará en el 2050, y aproximadamente la mitad sufrirá de AD. Los efectos del envejecimiento habían sido considerados tradicionalmente inmutables, sin embargo las investigaciones recientes demuestran que las intervenciones sistémicas extrínsecas, tales como el ejercicio físico, la restricción calórica y los cambios en la composición de la sangre mediante parabiosis heterocrónica o administración de plasma de individuos jóvenes, tienen el potencial de contrarrestar la pérdida de plasticidad en el cerebro de ratones viejos, mejorando significativamente la memoria y la función cognitiva. Por lo tanto, los potenciales factores rejuvenecedores sistémicos podrían ser la base de futuras estrategias para revertir el deterioro cognitivo durante el envejecimiento y en las enfermedades neurodegenerativas.

The world population is aging rapidly. Aging brain is associated with cognitive and memory impairments which are linked, not to a general loss of neurons, but to synaptic changes and reduction in adult stem/progenitor cells and neurogenesis. Aging is the strongest risk factor for the development of Alzheimer's disease (AD), a devastating neurodegenerative disorder that culminates in dementia and total dependence of patients and for which effective pharmacological treatment is not yet available. The number of elderly people over 80 years is projected to triple globally by 2050 and nearly half will be afflicted with AD. The effects of aging were traditionally thought to be immutable, however current research provides an increasing body of evidence supporting extrinsic systemic manipulations such as physical exercise, caloric restriction, and changing blood composition by heterochronic parabiosis or young plasma administration to have the potential to counteract this age-related loss of plasticity in the mice aged brain, significantly improving memory and cognition. Therefore, potential systemic rejuvenating factors may constitute the basis for future therapies to reverse cognitive decline during aging and neurodegenerative diseases.

Introducción

El envejecimiento es el principal factor de riesgo para el desarrollo de las formas esporádicas de las enfermedades neurodegenerativas, principal causa de discapacidad y dependencia en personas mayores de 60 años. Actualmente existen en el mundo cerca de 900 millones de personas (177 millones en Europa y unos 148 millones en el continente americano) que tienen más de 60 años (12% de la población mundial), y se estima que en el año 2050 esta cifra puede llegar a alcanzar los dos mil millones (21% de la población mundial). El aumento de la esperanza de vida está contribuyendo significativamente a este rápido aumento de la población de edad avanzada y en

consecuencia de las enfermedades crónicas entre ellas los procesos neurodegenerativos. Esta mayor longevidad de la población no ha ido acompañada de un aumento de los años de vida con buena salud de los individuos. De hecho el envejecimiento conlleva un deterioro progresivo de las funciones celulares y de los órganos en general, siendo el cerebro particularmente vulnerable. Aproximadamente el 10-20% de las personas con edad comprendida entre 60-80 años tiene alguna enfermedad neurológica, siendo la enfermedad de Alzheimer (AD) una de las más prevalentes junto con los accidentes cerebrovasculares. La AD representa la forma más común de demencia, y según el Informe Mundial del Alzheimer de 2015 se calcula que actualmente existen 46,8 millo-

nes de personas que padecen demencia y se prevé que aumente hasta los 131,5 millones en el año 2050. Identificar los cambios que determinan la transición entre un proceso de envejecimiento cerebral normal a otro patológico es sin duda una prioridad en la investigación biomédica actual teniendo en cuenta el gran impacto sanitario, económico y social que supondrá en un futuro cercano el acelerado envejecimiento poblacional.

Nuestra sociedad demanda urgentemente que se desarrollen herramientas para el diagnóstico preclínico de aquellos individuos en riesgo de padecer Alzheimer, o cualquier otra enfermedad neurodegenerativa asociada con la edad, así como de terapias innovadoras capaces de prevenir, frenar o retrasar la progresión de la enfermedad. Hoy conocemos que las alteraciones patológicas de la AD comienzan en el cerebro décadas antes de que se manifiesten los primeros síntomas clínicos, es por ello que la intervención terapéutica temprana en los estadios preclínicos es una oportunidad única para modificar con éxito el curso de la enfermedad antes de que el daño cerebral sea significativo e irreversible.

A falta de una terapia farmacológica efectiva contra estas enfermedades, se están explorando nuevas líneas de actuación dirigidas a potenciar la capacidad regenerativa y la plasticidad sináptica del cerebro y así contrarrestar la pérdida de funciones cognitivas. Entre estas aproximaciones es de destacar los efectos «rejuvenecedores» que sobre el cerebro y otros órganos produce la administración de plasma sanguíneo procedente de personas jóvenes. Identificar cuáles son estos factores circulantes en sangre con capacidad de disminuir/revertir los signos del envejecimiento, así como su origen y mecanismos de acción, abre una nueva era para combatir el envejecimiento cerebral y las patologías neurodegenerativas mediante aplicaciones terapéuticas sistémicas. La anhelada fuente de la juventud podría estar en nuestra propia sangre antes de envejecer.

Esta revisión pretende ofrecer una visión general sobre los conocimientos actuales en relación a los cambios que de forma progresiva y natural tienen lugar en el cerebro con la edad (envejecimiento normal), así como durante la enfermedad de Alzheimer como ejemplo del proceso neurodegenerativo más prevalente asociado a la edad (envejecimiento patológico). Finalmente, se discutirá la posibilidad de contrarrestar los efectos del envejecimiento y proteger a nuestro cerebro del deterioro neuronal y cognitivo (rejuvenecimiento cerebral).

Envejecimiento cerebral normal

El envejecimiento es un proceso complejo y multifactorial caracterizado por la pérdida progresiva de la integridad fisiológica que conduce a una disminución funcional y a una mayor vulnerabilidad a la muerte. A nivel cerebral se asocia generalmente con una disminución de la atención y la velocidad en el procesamiento de información, con déficits de la memoria espacial y de trabajo, y con deterioro de la función motora. La pérdida de memoria normal asociada con la edad se distingue de la patológica por el grado de estos déficits y la tasa de declive cognitivo. Los estudios de neuroimagen estructural por resonancia magnética (MRI) asocian estos cambios funcionales con una disminución en el volumen cerebral, en especial en regiones del lóbulo temporal medial. En concreto, en individuos de 70-80 años sanos (monitorizados cognitivamente y mediante análisis de potenciales marcadores patológicos en el líquido cefalorraquídeo) se ha determinado una disminución media de 0,3-0,5 % por año en el volumen cerebral completo. La mayoría de las áreas cerebrales se ven afectadas por esta atrofia, alcanzando el hipocampo y la amígdala una reducción del 1 % y en regiones de la corteza cerebral un 0,5 %. Sin embargo, la velocidad de atrofia cerebral es mucho mayor en el caso de un envejecimiento patológico, así por ejemplo en el hipocampo de pacientes de Alzheimer la reducción anual es del 3-4 % de su volumen. Durante el envejecimiento normal, y de forma más acusada en situaciones patológicas, la reducción del volumen cerebral va acompañada de otros cambios macroscópicos como son dilatación de los ventrículos, engrosamiento de las meninges y aumento del espacio subaracnoideo. A nivel microscópico, y en contraposición a los primeros estudios que describieron una notable pérdida neuronal durante el envejecimiento normal del 10-60 % (dependiendo de la región cerebral y del grupo neuronal estudiado), los trabajos más recientes utilizando técnicas mucho más precisas de recuento celular, como son las técnicas estereológicas, descartan la existencia de muerte neuronal, o bien es relativamente escasa, en el cerebro de los ancianos sanos. Si no hay apenas muerte neuronal en el cerebro envejecido, ¿cuál es la causa de la atrofia cerebral y el deterioro cognitivo?. En la actualidad existen numerosas evidencias científicas de cambios estructurales/morfológicos en las neuronas durante el envejecimiento fisiológico. Estos cambios se traducen en una reducida arborización dendrítica y axonal y en consecuencia del tamaño/volumen global de las neuronas. De hecho, se ha descrito una reducción significativa del número de espinas dendríticas y de contactos si-

nápticos en diversas regiones cerebrales siendo más marcada en la corteza prefrontal (responsable de mediar funciones ejecutivas complejas como la memoria de trabajo y la planificación) y en el hipocampo (crucial en la memoria espacial y consolidación de la memoria a largo plazo). Los cambios regresivos en el árbol dendrítico (longitud de los segmentos, complejidad de las arborizaciones, y en especial el número y tamaño de las espinas dendríticas) podrían ser responsable del deterioro cognitivo que manifiestan los individuos de edad avanzada. Las espinas dendríticas son el componente postsináptico de las sinapsis excitadoras glutamatérgicas sobre las neuronas piramidales de la neocorteza y del hipocampo, y son los sitios donde tienen lugar los mecanismos de plasticidad sináptica que subyacen a los procesos de memoria y aprendizaje como son la potenciación a largo plazo (intensificación de la comunicación sináptica) y la depresión a largo plazo (reducción de la eficacia sináptica). Estudios cuantitativos a microscopía electrónica de transmisión han revelado pérdida de contactos sinápticos asociados al proceso de envejecimiento normal en la corteza prefrontal y en diversas subregiones del hipocampo. Previo a esta pérdida estructural de sinapsis, el cerebro envejecido manifiesta una disfunción sináptica con reducción del tamaño de las densidades postsinápticas, bajada en los niveles de proteínas sinápticas, incluidos los receptores para neurotransmisores, y defectos en los fenómenos de plasticidad sináptica (refuerzo de las conexiones existentes o formación de nuevas sinapsis). Queda por determinar aún hasta qué grado estas alteraciones sinápticas hacen a las neuronas más vulnerables a la degeneración y que el individuo pase de un envejecimiento exitoso a otro patológico. El cerebro conserva durante la vida adulta una considerable plasticidad, la capacidad de sufrir cambios estructurales y funcionales en respuesta a nuevas experiencias o a un daño, y hoy sabemos que esta plasticidad puede ser promovida positivamente por diferentes factores relacionados con el estilo de vida como por ejemplo el ejercicio físico. El proceso de neurogénesis, formación de nuevas neuronas a partir de células madre neurales, representa otra forma de plasticidad morfológica y funcional en el cerebro adulto de mamíferos y se encuentra sustancialmente disminuida en el envejecimiento. Aunque la neurogénesis adulta tiene lugar en regiones muy discretas del sistema nervioso central, como son la zona subventricular (SVZ) de los ventrículos laterales y en la zona subgranular (SGZ) del giro dentado del hipocampo, la pérdida

de neurogénesis en el hipocampo es otra de las posibles causas del declive cognitivo asociado a la edad. Diversos estudios apoyan la práctica de actividad física regular por su efecto protector sobre la función cerebral y es de particular relevancia durante el envejecimiento. El ejercicio físico tiene el potencial de estimular la neurogénesis hipocampal probablemente a través de un aumento de los niveles séricos del factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF), que juega un papel fundamental en neuroplasticidad y neuroprotección. Se ha demostrado que el ejercicio físico regular (programa de entrenamiento aeróbico consistente en andar 40 minutos varias veces por semana) en personas mayores de 60 años puede llegar a incrementar el volumen de hipocampo hasta un 2% en un año y producir una mejora significativa de la función cognitiva.

En relación con los mecanismos moleculares que subyacen al proceso de envejecimiento cerebral numerosos estudios han demostrado que el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial son dos factores claves. Debido a su alta demanda de oxígeno (20%), elevada concentración de ácidos grasos poliinsaturados y reducida capacidad de síntesis de antioxidantes endógenos el cerebro es uno de los órganos más vulnerables al estrés oxidativo. Con el envejecimiento la capacidad de las células de eliminar las especies reactivas de oxígeno y radicales libres disminuye. Las especies reactivas del oxígeno (ROS) como el anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo ($OH\cdot$) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), tienen un gran potencial para causar daño oxidativo a los lípidos, las proteínas y el ADN. Estas especies reactivas se generan como subproductos de la respiración mitocondrial y por tanto estos orgánulos son la diana principal de este daño oxidativo. La disfunción mitocondrial provoca que las células tengan menos energía disponible para invertir en el mantenimiento y reparación cerebral llevando a la muerte celular. El envejecimiento normal se acompaña también de alteraciones en la homeostasis del calcio neuronal, lo cual podría estar relacionado con la oxidación de las proteínas implicadas en la homeostasis celular iónica. Esto es importante, ya que un aumento sostenido de las concentraciones intracelulares de calcio puede causar degeneración sináptica y muerte neuronal, y al hacerlo, contribuir con las deficiencias relacionadas con la edad en el aprendizaje y la memoria. Las terapias basadas en antioxidantes para frenar los signos del envejecimiento y mejorar las capacidades cognitivas están siendo objeto de intenso estudio actualmente.

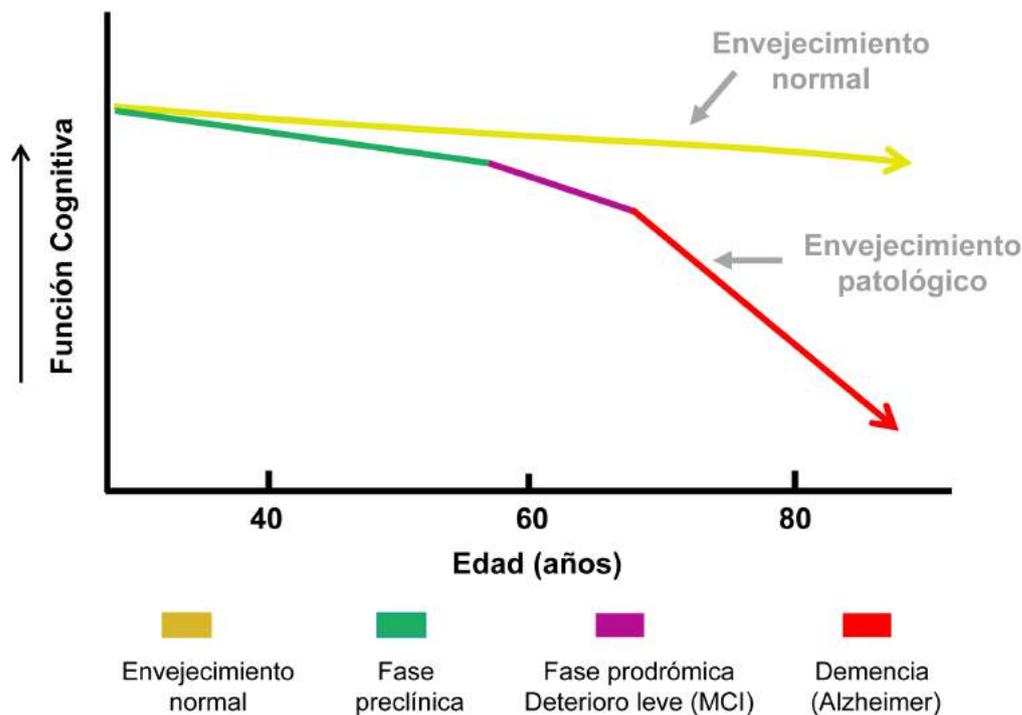


Figura 1. Evolución de la función cognitiva durante el envejecimiento Con la edad se produce una ligera pérdida de funciones cognitivas, siendo la memoria uno de los dominios cognitivos más afectados durante el proceso de envejecimiento normal. Esta pérdida de memoria se ve muy acentuada en la enfermedad de Alzheimer (envejecimiento patológico). Los pacientes de Alzheimer presentan una fase inicial asintomática (preclínica) que progresa hacia fases sintomáticas, primero manifiestan deterioro cognitivo leve (fase prodrómica) y finalmente un estado de demencia. Una compleja combinación de factores biológicos, genéticos, medioambientales y estilo de vida condicionan el curso de un envejecimiento normal o un envejecimiento patológico. Fuente: Elaboración propia.

Otra de las características moleculares del envejecimiento cerebral es la elevada acumulación de lipofuscina (pigmento marrón, electrodensito y autofluorescente compuesto por una compleja mezcla de lípidos y proteínas oxidadas) y de proteínas ubiquitinadas en el citoplasma de las neuronas. El incremento con la edad de estas sustancias en el interior celular es un claro reflejo de alteraciones en la vía de degradación autofágica-lisosomal. Esta vía juega un papel crucial en la homeostasis celular eliminando proteínas dañadas, agregados proteicos potencialmente tóxicos así como orgánulos obsoletos, promoviendo el reciclaje de macromoléculas para proporcionar nuevos nutrientes y energía. Numerosos estudios han demostrado que el envejecimiento conlleva una disfunción del sistema de autofagia, esto es además especialmente problemático en el cerebro ya que las neuronas son células postmitóticas que no se dividen y por tanto no pueden diluir el material de desecho que se va acumulando en su citoplasma con el tiempo. A edades avanzadas, la autofagia es insuficiente bien por una disminución del flujo autofágico o por la elevada cantidad de material a eliminar acumulado. La inducción de este proceso mediante manipulación farmacológica (rapamicina, inhibidor na-

tural del regulador negativo de la autofagia mTOR) o genética (estimulación de genes reguladores de la autofagia) ha demostrado un aumento de la longevidad de los individuos. La restricción calórica (reducción de ingesta de alimentos sin malnutrición) es una forma fisiológica de inducir autofagia, y ha demostrado tener un alto potencial anti-envejecimiento ya que prolonga la vida en la mayoría de los animales probados hasta ahora, reduciendo la atrofia cerebral así como la incidencia de diabetes, enfermedades cardiovasculares y cáncer. Esta acción beneficiosa de la restricción calórica se debe probablemente a una disminución en la producción de especies reactivas de oxígeno mitocondrial y la correspondiente disminución en sus efectos perjudiciales sobre proteínas, lípidos y ADN. La acumulación de agregados proteicos tóxicos se ve exacerbada en el envejecimiento patológico, siendo una característica histopatológica clave de todas las enfermedades neurodegenerativas y de ahí que se denominen como proteinopatías. Un número de inductores del proceso de autofagia, incluyendo rapamicina, valproato y litio, reducen la acumulación de estas proteínas tóxicas y la muerte celular en modelos animales de estas enfermedades.

Las lesiones histopatológicas clásicas del Alzheimer, como son la acumulación extracelular de péptidos β -amiloide ($A\beta$) en forma de placas seniles, y la formación de ovillos neurofibrilares intracelulares de agregados de la proteína Tau hiperfosforilada, están presentes en el cerebro de aproximadamente un tercio de las personas ancianas sin que éstas manifiesten demencia o deterioro cognitivo. Estos hallazgos indican que ciertos factores compensatorios (por ejemplo, nivel de estudios elevado, actividad social y buena salud cardiovascular) pueden proporcionar reserva cerebral (relacionada con el tamaño del cerebro, el número de neuronas o la densidad de conexiones) y reserva cognitiva (relacionada con la capacidad del cerebro para utilizar los circuitos neuronales de manera más eficiente o reclutar redes alternativas en presencia de patología), lo que podría permitir a los individuos tolerar una cantidad sustancial de patología sin experimentar un síndrome de demencia evidente, incluso en los portadores de genes de susceptibilidad para el Alzheimer, como es el alelo 4 de la apolipoproteína E (APOE).

La extensión de los cambios que sufre nuestro cerebro con el curso de la edad es muy variable y se ve influenciado por una compleja interacción de factores genéticos y ambientales. Sin embargo, es posible disfrutar de un envejecimiento cerebral exitoso manteniendo hábitos de vida saludable a lo largo de nuestra vida como por ejemplo controlar la composición y calidad de la dieta, realizar ejercicio físico de forma regular, no fumar, reducir el estrés y mantener una vida social y emocional activa.

Envejecimiento cerebral patológico

El envejecimiento es un proceso fisiológico que puede progresar sin la aparición de enfermedades concurrentes. Sin embargo, una proporción considerable de las personas mayores (10-30 % de la población mayor de 65 años y casi el 50 % de los que superan los 85 años de edad) sufren de pérdida de memoria y deterioro cognitivo acelerado hasta llegar a un estado de demencia, síntomas clásicos de la enfermedad de Alzheimer (AD), el trastorno neurodegenerativo más común asociado a la edad. La AD es responsable del 50-70 % de los casos de demencia en las personas mayores de 65 años. Los estudios epidemiológicos y genéticos han identificado muchos factores que aumentan el riesgo de AD, algunos de ellos no son modificables (edad, factores genéticos) pero aquellos otros relacionados con el estilo de vida (presión arterial alta, obesidad, inactividad física y dietas poco saludables) sí lo son. Es de máxima importancia desde un punto de vista de prevención

primaria la actuación sobre los factores de riesgo modificables para retrasar el inicio de la AD y reducir así la prevalencia general de la demencia. En la actualidad no existe ningún tratamiento farmacológico efectivo que modifique el curso de la enfermedad. Los diversos fármacos aprobados para el tratamiento se basan en la modulación de la neurotransmisión colinérgica (inhibidores de la colinesterasa) o glutamatergica (antagonistas no competitivos de los receptores N-metil D-Aspartato o NMDA), y aunque tienen efectos modestos sobre la función cognitiva, no detienen ni revierten la patología subyacente. El desarrollo de terapias que frenen o retrasen el avance de la patología asociada al Alzheimer es uno de los principales retos biomédicos a los que se enfrenta nuestra sociedad. La AD de inicio temprano (antes de los 65 años de edad) representa un 2 % de todos los casos, se denomina de tipo familiar y es causada por mutaciones en los genes de la proteína precursora amiloide (APP), presenilina 1 (PSEN1) o presenilina 2 (PSEN2) que se heredan de forma autosómica dominante. La AD de tipo esporádico es más tardía (a partir de los 65 años de edad), representa aproximadamente el 98 % de todos los casos y no se conocen las causas que la originan aunque probablemente es el resultado de una compleja combinación de factores ambientales y genes de riesgo. Independientemente del origen (familiar u esporádico) los pacientes desarrollan lesiones histopatológicas similares. A nivel microscópico, el cerebro de los pacientes de AD se caracteriza por la pérdida de sinapsis y la muerte neuronal masiva, eventos claves que subyacen a las manifestaciones clínicas, junto con la acumulación anómala de proteínas agregadas (péptidos $A\beta$ y proteína Tau hiperfosforilada) y un proceso neuroinflamatorio con activación glial (microglía y astrogliá). El deterioro cognitivo inicial parece ser consecuencia de un proceso de pérdida de sinapsis y daño axonal mientras que la fase de demencia se correspondería mejor con el de la muerte neuronal. Las regiones más severamente afectadas incluyen el hipocampo, la corteza entorrinal, la amígdala, la neocorteza y algunas áreas subcorticales. Como resultado de este daño neuronal, el cerebro de los pacientes de AD muestra una atrofia bien definida, sobre todo en la región hippocampal y en áreas de la corteza asociativa, junto con unos ventrículos muy expandidos. Las causas que determinan la muerte de las neuronas sigue sin conocerse, aunque numerosas evidencias apuntan al estrés oxidativo, la disfunción mitocondrial, alteraciones de la homeostasis iónica, disfunción del citoesqueleto y el transporte axonal, junto con fallos del sistema de degradación autofagia-lisosomal. La contribución diferencial de las formas oligoméricas

tóxicas de $A\beta$ y de fosfo-Tau al proceso de muerte neuronal no ha sido esclarecida aún. Otro aspecto importante es determinar cuáles son las causas de la vulnerabilidad selectiva que muestran las diferentes poblaciones neuronales al proceso degenerativo. En este sentido, se conoce que las neuronas colinérgicas del telencéfalo basal son muy susceptibles y es precisamente en este hecho donde se fundamenta la hipótesis colinérgica del Alzheimer y el subsecuente desarrollo de los inhibidores de la colinesterasa como terapia. Las neuronas piramidales (glutamatérgicas) de capa II de la corteza entorrinal, junto con las del hipocampo, son también altamente vulnerables. Numerosas evidencias han demostrado la implicación de alteraciones en los circuitos GABAérgicos en la AD. Dentro del circuito del hipocampo, la subpoblación de interneuronas que expresan el neuropéptido somatostatina (SOM), como son las células *oriens-*

lacunosum moleculare (células O-LM), producen inhibición de las dendritas distales de las neuronas piramidales glutamatérgicas modulando la plasticidad sináptica, la señalización intracelular y la expresión génica requerida para la formación de memoria. La pérdida o actividad disfuncional (por degeneración de las aferencias colinérgicas) de las células O-LM sin duda contribuye a los déficits de memoria y aprendizaje. Diversos estudios han demostrado que tanto en el envejecimiento normal, y de forma mucho más acusada en la enfermedad de Alzheimer, las interneuronas SOM sufren un proceso degenerativo selectivo. Por tanto, proteger y/o incrementar la actividad de estas interneuronas sería una estrategia terapéutica prometedora para mejorar los ritmos cerebrales y la función cognitiva con la edad y en situación patológica.

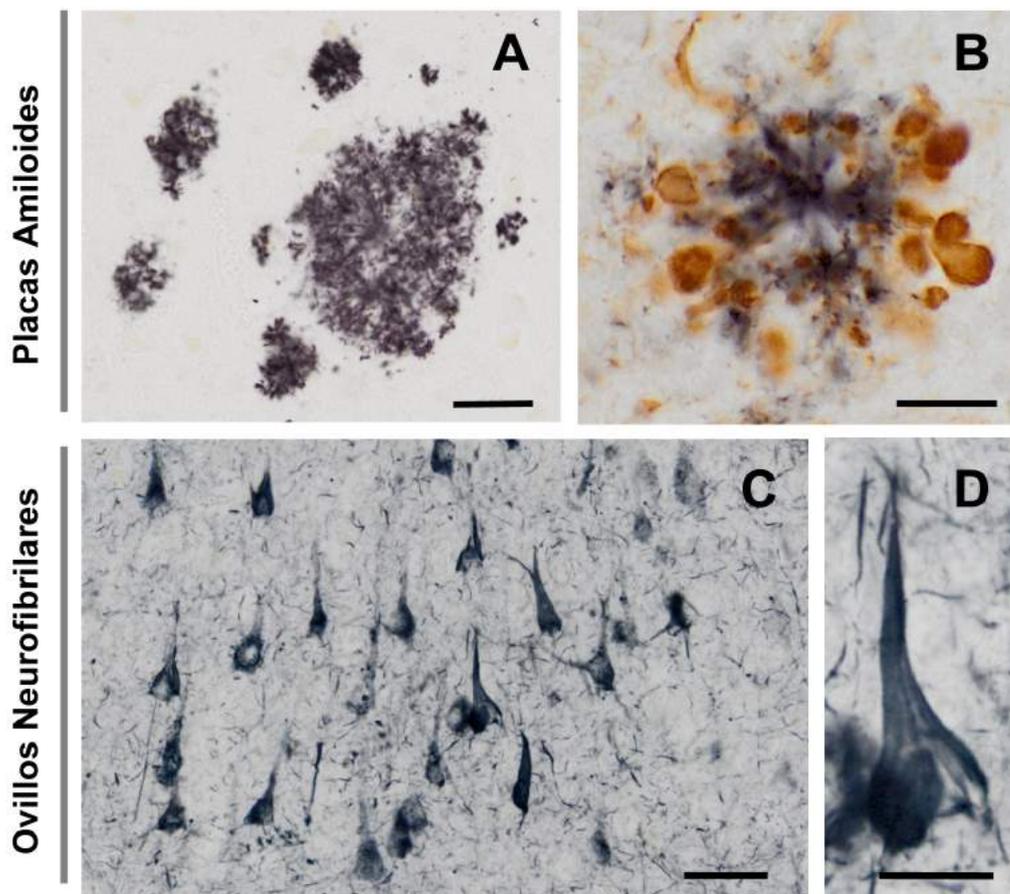


Figura 2. Lesiones histopatológicas clásicas de la enfermedad de Alzheimer. A) Placas amiloides en el parénquima cerebral inmunoteñidas para $A\beta$; B) Placa neurítica identificada mediante inmunotinción para $A\beta$ (en azul) y neuritas distróficas (en marrón); C) Neuronas piramidales con ovillos neurofibrilares intracelulares visualizados con un anticuerpo para fosfo-tau; D) Detalle de una neurona piramidal con ovillos. Imágenes a microscopía óptica de secciones de cerebro postmortem de un paciente de Alzheimer (Braak V-VI). Barras de escala, A y C, 50 μm ; B y D, 20 μm . *Imágenes originales obtenidas en el laboratorio de la Dra. A. Gutiérrez de la Universidad de Málaga*

Como ya se ha comentado, una característica distintiva de la patología cerebral en la AD es la presencia a nivel extracelular de las denominadas placas amiloides. Estos depósitos en el parénquima cerebral están compuestos por fibrillas formadas por el fragmento proteico $A\beta$, resultado de la acción secuencial de las enzimas β - y γ -secretasa sobre la proteína APP. Existen diferentes variantes de $A\beta$, y se cree que una de las formas más largas, el $A\beta_{42}$, es particularmente tóxica al promover la agregación y formar oligómeros de $A\beta$. El deterioro cognitivo que manifiestan los pacientes se correlaciona bien con los niveles de $A\beta$ oligomérico soluble en el cerebro, no así con la cantidad de placas (depósitos proteicos insolubles) en el parénquima. Aproximadamente un tercio de los ancianos sanos, el 60% de los individuos con deterioro cognitivo leve (MCI, del inglés *Mild Cognitive Impairment*) y todos los pacientes con demencia presentan depósitos de amiloide en el cerebro, como se demuestra mediante neuroimagen con PET (tomografía por emisión de positrones) utilizando radioligandos que se unen a $A\beta$ tales como el compuesto Pittsburgh B (PiB). El otro signo histopatológico principal de la enfermedad es la acumulación dentro de las neuronas de la proteína Tau asociada a microtúbulos (MAPT) hiperfosforilada dentro de las neuronas, formando los ovillos neurofibrilares (NFTs). La patología Tau, a diferencia de la patología $A\beta$, sigue un patrón espacial y temporal bien definido comenzado en la región transentorrinal, seguido por el hipocampo y posteriormente por regiones neocorticales, que ha permitido clasificar la progresión de la enfermedad en una serie de estadios (de Braak I a Braak VI). Las placas amiloides y la patología Tau están presentes no sólo en la AD, sino también en otros trastornos neurodegenerativos, lo que sugiere un papel central para estas proteínas en la neurodegeneración. Las proteínas codificadas por los genes APP, PSEN1 y PSEN2 están implicadas en la producción de $A\beta$, y las mutaciones en estos genes producen una sobreproducción de los péptidos $A\beta$. La hipótesis de la cascada amiloide que postula que el $A\beta$ dispara una serie de eventos moleculares de efectos tóxicos que lleva a la neurodegeneración y las consiguientes manifestaciones clínicas de la AD, ha dominado los últimos 25 años el debate sobre la patogénesis del Alzheimer y ha sido la base para la mayoría de los esfuerzos terapéuticos y ensayos clínicos realizados hasta la fecha. Desafortunadamente, ninguna aproximación terapéutica dirigida al péptido $A\beta$ (bloquear su producción o agregación, potenciar su eliminación mediante inmunoterapias) ha tenido éxito hasta ahora, por lo tanto, la cuestión de si es una buena diana para el tratar la AD está bajo

debate y se necesitan más esfuerzos a nivel de la investigación básica para comprender las posibilidades y limitaciones de este enfoque. También, es fundamental descifrar las funciones biológicas de APP, el precursor proteico de $A\beta$ y de sus metabolitos, incluyendo $A\beta$, en los individuos sanos para conocer los riesgos potenciales de bloquear su producción.

La formación de los ovillos neurofibrilares en las neuronas ha sido considerada como un evento secundario en la patología del Alzheimer a pesar de su correlación directa con la muerte neuronal y la progresión de la enfermedad. No se han encontrado mutaciones en el gen de la proteína Tau que causen directamente la AD. La proteína Tau regula el ensamblaje, la dinámica y organización espacial de los microtúbulos, y participa en el transporte axonal de orgánulos y vesículas. La actividad biológica de Tau está regulada por su grado de fosforilación, y su hiperfosforilación la convierte en una proteína desestabilizadora de microtúbulos, promueve su agregación y la formación de los NFTs en el interior de las neuronas. Todo ello conlleva graves alteraciones en la organización del citoesqueleto y en el transporte de proteínas y vesículas comprometiendo la viabilidad neuronal. Múltiples aproximaciones terapéuticas anti-Tau como son inhibidores de quinasas, anti-agregantes e inmunoterapias se están probando en ensayos clínicos, sin embargo al igual que ocurre para aquellas terapias dirigidas contra $A\beta$, ninguna ha tenido éxito hasta la fecha a pesar de que en los ensayos preclínicos con modelos animales si se han visto efectos beneficiosos. Se desconocen las razones de la falta de traslación exitosa de los estudios preclínicos a los clínicos en el tratamiento de la AD. Tanto en los enfoques basados en $A\beta$ como en los basados en Tau, la escasez de buenos modelos animales predictivos de la enfermedad, de buenos biomarcadores de la progresión de la enfermedad y de poblaciones bien definidas para los ensayos clínicos han sido desafíos importantes a la hora de demostrar beneficios potenciales en los ensayos clínicos. La AD se desarrolla durante un largo período preclínico de varias décadas, seguido de una fase prodrómica con deterioro cognitivo leve y finalmente una fase de demencia (de leve a severa). Es necesario disponer de herramientas de diagnóstico eficaces para detectar los individuos en fases muy iniciales, asintomáticos o con MCI, donde probar posiblemente con mayor éxito la eficacia preventiva o curativa de los tratamientos ya que la mayoría de los ensayos hasta ahora han seleccionado individuos en fases avanzadas de la enfermedad en los cuales el daño cerebral es ya irreversible. Una importante línea de investigación actual está centrada en la búsqueda de bio-

marcadores de la progresión de la enfermedad en el líquido cefalorraquídeo, plasma o por neuroimagen, así como la identificación de genes de susceptibilidad mediante estudios epidemiológicos de asociación del genoma completo (GWAs). Actualmente, hay en marcha varios ensayos clínicos basados en inmunoterapias en poblaciones clasificadas en riesgo (positivas para algunos de estos biomarcadores y/o portadoras de genes de riesgo) y en poblaciones presintomáticas afectadas por alguna de las mutaciones asociadas al Alzheimer familiar. APOE4 es el principal factor de riesgo genético para la enfermedad de Alzheimer de tipo esporádico, siendo portadores de este alelo entre el 60-80% de los pacientes. El riesgo es de más del 50% para los individuos homocigotos para APOE4 y del 20-30% para los heterocigotos APOE3/APOE4. Entre los efectos deletéreos de APOE4 sobre A β se incluyen fomentar la formación de fragmentos neurotóxicos e interferir en su eliminación. Los recientes estudios de GWAs han identificado que además de APOE4 existen más de 20 loci genéticos de riesgo para el Alzheimer esporádico. Estos genes apuntan hacia el sistema inmune y la respuesta neuroinflamatoria, el metabolismo lipídico y del colesterol, el reciclaje de vesículas y la endocitosis, como vías implicadas en el desarrollo/progresión de la patología y por tanto potenciales dianas terapéuticas. Estas variantes genéticas afectan a un gran número de personas pero en general contribuyen poco al riesgo individual de padecer la enfermedad. Entre los nuevos factores genéticos de riesgo identificados uno de los más validados y que confiere un aumento sustancial de riesgo a los portadores, son las variantes en el gen TREM2 (del inglés *Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 2*). Este gen codifica para un receptor microglial implicado en la eliminación A β . La microglía son las células del sistema inmune innato cerebral, y se encargan de la protección y mantenimiento del tejido mediante la eliminación de sustancias extrañas, proteínas agregadas tóxicas y restos celulares, junto con la liberación de factores neurotróficos. Además, estas células gliales juegan un papel fundamental en la protección y remodelación de las sinapsis, contribuyendo así a la plasticidad de los circuitos neuronales. La existencia de una respuesta neuroinflamatoria mediada por la activación de las células microgliales y astrogliales en el cerebro de los pacientes de Alzheimer es un hecho aceptado y actualmente es una de las vías alternativas en el desarrollo de nuevas terapias. Estas células gliales activadas se localizan alrededor de las placas amiloides de tipo neurítico. Sin embargo, el papel beneficioso o perjudicial de la neuroinflamación en el Alzheimer es aún materia de debate. Las células de la microglía son activadas por el A β

oligomérico o fibrilar pudiendo dar lugar a diferentes fenotipos funcionales de forma similar a los macrófagos periféricos: el fenotipo clásico M1 o proinflamatorio asociado a la expresión de genes citotóxicos y el fenotipo M2 o alternativo de naturaleza neuroprotectora. El fenotipo M1 microglial se caracteriza por la producción de citoquinas proinflamatorias como el TNF, IL-1, IL-6 e IL-12 entre otras, y presenta una escasa capacidad fagocítica. Por el contrario, el fenotipo M2 se caracteriza por la secreción de citoquinas anti-inflamatorias como IL-4, IL-10, IL-13 y TGF β , y además presenta una alta actividad fagocítica. La visión dominante en la actualidad sobre el proceso neuroinflamatorio en la enfermedad de Alzheimer otorga un papel neurotóxico a la activación de la microglía. Esta visión está basada principalmente en los estudios realizados en modelos transgénicos de Alzheimer basados en sobreproducción de A β , donde se observa una respuesta microglial muy marcada con carácter neurotóxico. Sin embargo, un estudio reciente avala la hipótesis según la cual en el cerebro de los pacientes, al menos en el hipocampo, no ocurre esta activación microglial sino que por el contrario tiene lugar un marcado proceso de degeneración microglial, mediado por las formas solubles de fosfo-Tau. Esta patología microglial conduciría a una menor protección del parénquima cerebral y a una reducida capacidad de eliminación de las formas tóxicas de A β potenciándose así la progresión de la enfermedad. Por tanto, la patología cerebral en los pacientes se vería disparada por un estado de inmunosupresión. Esta hipótesis explicaría el continuo fracaso de las terapias anti-inflamatorias en los ensayos clínicos. Por tanto, sería necesario reevaluar el papel de la respuesta neuroinflamatoria en la enfermedad y enfocar las terapias hacia la protección de la microglía y su polarización hacia un fenotipo neuroprotector. Por otro lado, se cree que los astrocitos también tienen un papel importante en el proceso neuroinflamatorio, observándose una fuerte reactividad astrogliar en el cerebro de pacientes de Alzheimer, aunque los posibles fenotipos funcionales de los astrocitos aún no se conocen. Los astrocitos participan en la homeostasis, defensa y mantenimiento del cerebro y por tanto una disfunción de esta población glial tendría graves repercusiones en la integridad de los circuitos neurales. Por tanto, en los próximos años es de esperar importantes avances en la comprensión de la extraordinaria plasticidad de las células microgliales y astrogliales y su contribución al desarrollo o progresión de la enfermedad, lo que abrirá nuevas perspectivas terapéuticas. Una de las prioridades en la investigación básica es sin duda desarrollar nuevos modelos animales de la en-

fermedad que conjuntamente a la patología de $A\beta$ y de fosfo-Tau también mimeticen la respuesta glial observada en pacientes. Por último, hay que tener en cuenta que la respuesta inmune cerebral se ve influenciada por los eventos sistémicos, por tanto, hay que potenciar el estudio de los efectos que las enfermedades sistémicas (inflamación sistémica, diabetes, hipertensión, etc.) tienen sobre la patología del Alzheimer con objeto de abrir nuevas rutas potenciales que permitan retrasar su aparición o progresión.

En resumen, a pesar de los grandes avances que se han realizado sobre la biología molecular y celular de la enfermedad de Alzheimer aún no existe un tratamiento farmacológico efectivo, siendo sin duda su desarrollo uno de los principales retos a los que se enfrenta la medicina moderna en los próximos años. Una terapia efectiva contra la AD probablemente requerirá de tratamientos combinados dirigidos a múltiples mecanismos biológicos, como la respuesta inflamatoria, la homeostasis proteica, la disfunción mitocondrial, el mantenimiento sináptico y la neuroprotección, para bloquear y contrarrestar la diversidad de procesos patogénicos que tienen lugar en esta compleja enfermedad.

Rejuvenecimiento cerebral

El envejecimiento cerebral se ve afectado por factores genéticos y medioambientales, siendo un fenómeno plástico con potencial de ser modificado. Los efectos del envejecimiento no ocurren exclusivamente en el cerebro; más del 70% de las personas mayores de 65 años padecen dos o más condiciones crónicas tales como artritis, diabetes o enfermedad cardiovascular (envejecimiento sistémico). Numerosas evidencias han demostrado que «manipulaciones» sistémicas como el ejercicio físico y la restricción calórica pueden contrarrestar parcialmente los signos del envejecimiento. En base a esto, se ha planteado la posibilidad de reactivar la plasticidad latente en el cerebro envejecido como medio de rejuvenecer la función cognitiva, sináptica y regenerativa a edades avanzadas. El Dr. Wyss-Coray y sus colegas de la Universidad de Stanford en California han revolucionado y dado un giro a la idea tradicional de que el envejecimiento es un proceso lineal e irreversible, demostrando un potente efecto rejuvenecedor en el cerebro de ratones viejos tras la administración de sangre de animales jóvenes. Mediante la conexión del sistema circulatorio de un ratón joven al de otro viejo, proceso conocido como parabiosis heterocrónica, han conseguido inducir en el individuo envejecido cambios significativos a nivel cerebral, pero también en el corazón, en el músculo y en casi to-

dos los tejidos y órganos examinados. La sangre de los animales jóvenes aumentaba la capacidad regenerativa y funcional del cerebro de ratones viejos. A nivel cerebral, los ratones viejos parabiontes que recibieron sangre joven mostraron un aumento de la densidad de espinas dendríticas, con incremento de la plasticidad sináptica y de la capacidad cognitiva. Además, se observó un mayor proceso de mielinización en la médula espinal (reclutando monocitos jóvenes periféricos y promoviendo la diferenciación de progenitores de oligodendrocitos), contrarrestando así la desmielinización asociada a la edad y su repercusión en la actividad muscular y sensorial. En las dos zonas neurogénicas cerebrales, SVZ y SGZ, se observaba un aumento en la producción de nuevas neuronas en los ratones viejos tratados con la sangre joven.

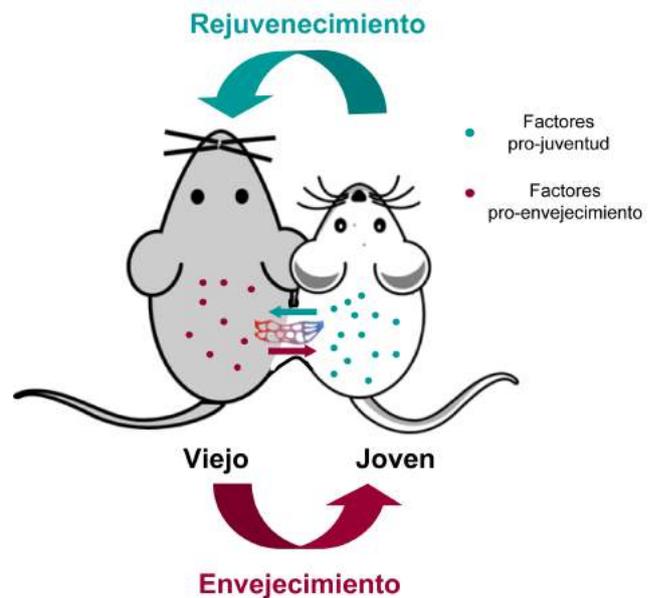


Figura 3. Parabiosis heterocrónica y rejuvenecimiento cerebral. El esquema ilustra la parabiosis heterocrónica mediante la cual se conectan los sistemas circulatorios de un ratón joven y de otro viejo. Los factores «rejuvenecedores» presentes en la sangre del ratón joven pasan a la circulación del animal viejo e inducen un aumento de la plasticidad sináptica, formación de nuevas neuronas y mejora de la capacidad cognitiva contrarrestando los efectos del envejecimiento. Del mismo modo los factores «pro-envejecimiento» del animal viejo pasan al joven induciendo algunos de los efectos negativos asociados a la edad. Fuente: Elaboración propia.

La relevancia funcional de estos efectos rejuvenecedores en el cerebro es muy destacada, ya que los cambios inducidos se traducían en una significativa mejora cognitiva de los ratones viejos lo que demuestra la importancia de factores sistémicos periféricos en la regulación de la actividad de las células madre neuronales. Estos mismos efectos han sido reprodu-

cidos mediante la transfusión de plasma de personas jóvenes a ratas envejecidas (una dosis de 15 μ l cada tres días durante tres semanas). ¿Sería posible entonces que este efecto rejuvenecedor de la sangre joven se pueda reproducir en pacientes con enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer?. La respuesta a esta pregunta se conocerá en un futuro cercano. Actualmente, la compañía Alkahest de California, fundada por Wyss-Coray, está llevando a cabo el primer ensayo clínico para evaluar el efecto del plasma de donantes jóvenes en pacientes de Alzheimer. Los pacientes están recibiendo una vez a la semana una unidad de plasma (200mL) procedente de jóvenes menores de 30 años, y están siendo evaluados mediante técnicas de neuroimagen cerebral, biomarcadores en sangre y pruebas de memoria, lenguaje, orientación espacial y atención visual. Mientras tanto, diversos grupos de investigación están explorando cuestiones fundamentales como ¿cuáles con los factores en la sangre que inducen este efecto rejuvenecedor?, ¿cuánto duran los efectos de la sangre joven en un cerebro viejo?, ¿qué cambios induce la sangre joven en el cerebro viejo para promover ese rejuvenecimiento?, y ¿existe algún efecto secundario negativo de este tratamiento?. Respecto a los posibles factores «pro-juventud», se ha aislado del plasma sanguíneo un potencial candidato, la proteína GDF11 (del inglés *growth differentiation factor 11*). Esta proteína regula la actividad de las células madre y es muy abundante en individuos jóvenes, pero sus niveles parecen disminuir en individuos viejos. La administración de GDF11 a ratones viejos reduce el engrosamiento de las paredes del corazón, e induce la formación de nuevos vasos sanguíneos y de neuronas olfatorias en el cerebro. Aunque existen algunos estudios contradictorios, sería interesante comprobar si la administración sistémica de esta proteína tiene efectos beneficiosos en el cerebro humano. Otros potenciales factores rejuvenecedores son la hormona liberadora de la hormona del crecimiento (GHRH) y la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH). La administración sistémica de estas proteínas produce un aumento de la neurogénesis, resultando en una mejora de la función cognitiva en ratones. Muchas otras proteínas o moléculas en el plasma po-

drían tener también efectos beneficiosos y su identificación es objeto de intensa investigación. Otra línea de interés es determinar posibles factores pro-envejecimiento en la sangre de los individuos viejos sobre los que actuar bloqueando su efecto. En este sentido, se ha identificado la proteína $\beta 2$ microglobulina (B2M), un componente del complejo principal de histocompatibilidad de la clase I y por tanto del sistema inmunitario, como un factor circulante en sangre que regula negativamente la regeneración y función cognitiva del hipocampo de ratones. Los ratones manipulados genéticamente que no expresan B2M envejecen sin deterioro cognitivo aparente. Sin embargo, cuando esta proteína se inyecta intracerebralmente a ratones jóvenes se produce pérdida de memoria y reducción en el proceso de neurogénesis. Por tanto, el desarrollo de estrategias terapéuticas anti-envejecimiento dirigidas al bloqueo de esta proteína podría ser de interés.

Aunque aún quedan muchas incógnitas por resolver, resulta excitante la posibilidad de poder combatir el envejecimiento cerebral mediante manipulación sistémica de factores pro-juventud o pro-envejecimiento y así modular la plasticidad cerebral y restaurar la capacidad cognitiva en individuos viejos o en pacientes de la enfermedad de Alzheimer.

Para mas información

¹Castellano JM y otros. Blood-borne revitalization of the aged brain. *JAMA Neurol* 72(10):1191-1194, 2015.

²Heneka M y otros. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 14:388-405, 2015.

³López-Otín C y otros. The hallmarks of aging. *Cell* 153:1194-1217, 2013.

⁴Morrison JH y Baxter MG. The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nature* 13:240-250, 2012.

⁵Scheltens P y otros. Alzheimer's disease. *Lancet* 388(10043):505-517, 2016.

⁶Smith LK y otros. 2-microglobulin is a systemic pro-aging factor that impairs cognitive function and neurogenesis. *Nature Med* 21(8):932-937, 2015.

⁷Winblad B y otros. Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol* 15(5):455-532, 2016.

⁸Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation. *Nature* 539:180-186, 2016.

¿ES POSIBLE EL REJUVENECIMIENTO CELULAR?

por IGNACIO RAMÍREZ PARDO

GRADUADO EN BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA. FACULTAD DE CIENCIAS. AV. DE CERVANTES, 2, 29071 MÁLAGA (ESPAÑA)

IRAMPARDO@GMAIL.COM

Palabras clave: rejuvenecimiento, iPSCs, CRISPR-CAS9

Keywords: rejuvenation, anti-aging, iPSCs, CRISPR/Cas9, muscular dystrophy

Enviado: 1 de diciembre de 2016

Aceptado: 5 de diciembre de 2016

El envejecimiento es un proceso gradual e intrínseco de las células influenciado por las condiciones de vida, donde se altera la homeostasis celular. La generación de iPSCs permitió reprogramar e incluso, rejuvenecer las células. Por otro lado, las herramientas de edición genómica como CRISPR/Cas9 junto con cambios en el medio de cultivo podrían usarse para producir iPSCs de individuos envejecidos. En este artículo se muestra cómo estas dos tecnologías revolucionarias podrían emplearse para tratar enfermedades asociadas al envejecimiento.

Aging is a gradual and intrinsic cellular process influenced by lifestyle that alters cellular homeostasis. iPSCs generation allowed cellular reprogramming and even rejuvenate cells. Moreover, genome editing tools such as CRISPR/Cas9 and culture medium changes may allow iPSCs production of aged individuals. This article shows how the combination of these revolutionary technologies can be used to treat aging-associated diseases.

Envejecimiento y rejuvenecimiento

Los pasos agigantados en el avance de la medicina han supuesto el incremento de la esperanza de vida humana más allá de lo previsto por la propia selección natural^[1,2]. Esto ha puesto de manifiesto patologías asociadas al envejecimiento antes desconocidas, por ello ha estimulado a investigar a nivel celular y molecular cómo se alteran las células humanas con la edad.

El envejecimiento celular consiste en la pérdida de la homeostasis celular por un proceso de deterioro molecular^[3]. Se trata de un proceso inexorable, que sigue una programación biológica influenciada por agentes externos que generan un estrés celular, por lo que tiene un alto componente multifactorial. A grandes rasgos, ocurre una acumulación de macromoléculas o estructuras subcelulares dañadas, tanto en el núcleo como en el citoplasma, e incluso a nivel sistémico del individuo^[3,4]. En primera instancia, este deterioro es subsanado por los mecanismos de reparación del ADN, de proteostasis y de biogénesis de los distintos orgánulos. Sin embargo, con la acumulación del daño y el estrés celular externo persistente todos estos sistemas se saturan. Esto causa que las células reduzcan su viabilidad, desencadenando respuestas como la apoptosis o la senescencia que disminuyen la funcionalidad del órgano en el que se encuentran; y en los nichos de células madre, su potencial regenerativo^[5]. Dado que el envejecimiento tiene lugar en todas las células, el organismo sufre un

envejecimiento sistémico, donde cabe destacar el deterioro del sistema inmune y endocrino. Visiblemente, esto supone un cambio fenotípico en el individuo. Sin embargo, a nivel molecular se correlaciona con la aparición de ciertas patologías como las enfermedades neurodegenerativas, el cáncer, la diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares, sarcopenia muscular o enfermedades metabólicas^[3]. Por otro lado, los defectos en la maquinaria de reparación del ADN o de la lámina nuclear dan lugar a diversas formas de progeria o envejecimiento acelerado. Por ello, el rejuvenecimiento celular consistiría en revertir todos estos mecanismos que causan el deterioro de la maquinaria celular. Para ello sería necesario subsanar o eliminar la acumulación del deterioro macromolecular suprimiendo el estrés metabólico y la generación de ROS. Alternativamente, la activación temprana de la maquinaria de reparación del ADN o de los mecanismos de proteostasis podría también suponer otra forma de rejuvenecer las células.

La lucha contra el envejecimiento celular

Se ha comprobado cómo la práctica habitual de ejercicio físico tiene numerosos efectos beneficiosos para la salud, como retrasar el envejecimiento^[6]. Durante el envejecimiento, la vía de mTOR se activa de forma persistente ante la abundancia de nutrientes y señales mitógenas, lo que estimula el anabolismo celular. Esto genera un estrés metabólico ante la síntesis aberrante de proteínas, que no pueden ser eli-

minadas porque mTOR también bloquea el complejo de iniciación de la autofagia, un importante mecanismo de proteostasis. El ejercicio físico limita la fuente de nutrientes e indirectamente inhibe mTOR, lo que reestablece los mecanismos de proteostasis para que eliminen el exceso de proteínas mal plegadas o de orgánulos dañados. Además, el ejercicio físico activa las sirtuinas, una familia de desacetilasas dependientes de NAD⁺ presentes en núcleo, citosol y mitocondrias^[6]. Estas enzimas tienen un efecto antagónico a mTOR, favoreciendo el correcto plegamiento proteico y modulando el epigenoma celular a la vez que activan la maquinaria de reparación del ADN.

Los fármacos diseñados para rejuvenecer las células tienen varias dianas moleculares que tratan de mimetizar los efectos del ejercicio físico^[7]. Para ello, inhiben mTOR o activan las sirtuinas, ya sea directamente o elevando los niveles de NAD⁺. Sin embargo, estos fármacos no son capaces de rejuvenecer las células, ya que los telómeros se acortan, se acumula el deterioro macromolecular y el envejecimiento sistémico del individuo sigue afectando a las células del mismo. Por ello, estos fármacos suelen emplearse como prevención, tratamiento complementario ante el diagnóstico de alguna patología o para ralentizar el envejecimiento en los casos de progeria.

El horizonte del rejuvenecimiento

El descubrimiento de las células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) de ratón^[8] y humanos^[9], por Yamanaka y otros en 2006 y 2007, respectivamente, supuso una revolución para la biología celular. Las iPSCs se obtienen mediante la transfección de células somáticas con los factores de Yamanaka o factores OSKM (Oct-4, Sox2, Klf-4 y c-Myc).

A diferencia de las aproximaciones terapéuticas mencionadas anteriormente, se ha comprobado que la generación de estas iPSCs supone la reprogramación de las células somáticas a un estado rejuvenecido^[10,11,12]. Esto ocurre porque la generación de iPSCs restaura el patrón epigenético celular, los mecanismos de proteostasis y reactiva parcialmente la telomerasa, a la par que promueve la biogénesis mitocondrial y regeneración tisular.

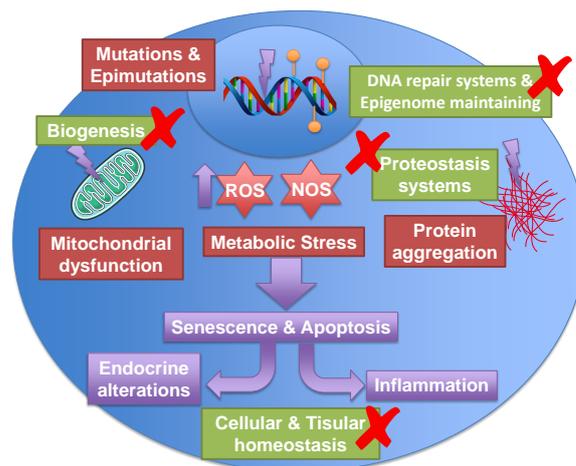


Figura 1. Modelo de los mecanismos implicados en el envejecimiento celular. El ambiente celular así como el envejecimiento celular intrínseco producen el deterioro de las estructuras subcelulares y macromoleculares (rojo) donde los sistemas de reparación (verde) tratan de subsanarlos. Estos sistemas se saturan y dan lugar a las respuestas celulares de senescencia y apoptosis (violeta) que tienen un efecto local y/o sistémico a nivel de inflamación o alteraciones endocrinas. Todo ello culmina con la alteración de la homeostasis celular y tisular, que eventualmente se correlacionará con la aparición de alguna patología asociada al envejecimiento del individuo. Fuente: Elaboración propia.

En términos generales, la capacidad de las células de reprogramarse está limitada por su estado epigenético^[13]. Con el envejecimiento celular aumenta el estrés oxidativo y el daño del ADN en forma de mutaciones y epimutaciones, lo que dispara la respuesta DDR (del inglés, *DNA, Damage Response*) de forma persistente. En primera instancia, se activa la maquinaria de reparación de ADN; sin embargo ante la magnitud del daño o su persistencia el sistema se satura y se dispara la senescencia. Con la respuesta senescente se altera el patrón epigenético donde algunas regiones se ven enriquecidas de marcas represoras. Entre las enzimas que generan y mantienen estas marcas cabe destacar DOT1L^[14], una histona metiltransferasa que comienza a activarse ante la DDR y mantiene la compactación de la cromatina. Por tanto, la forma de obtener iPSCs a partir de células senescentes consiste en inhibir DOT1L mediante antioxidantes como la NAC (N-Acetil Cisteína) o la vitamina C; o pequeñas moléculas como la RSC133 que además retrasan o debilitan la senescencia^[15]. Por otro lado, si la senescencia se disparó debido al acortamiento telomérico, a pesar de que la célula adquiera la pluripotencialidad inducida, ésta no será viable porque la longitud telomérica no es suficiente para soportar las primeras mitosis. De forma que sería óptimo incluir una expresión transitoria de la

telomerasa para generar iPSCs de individuos envejecidos.

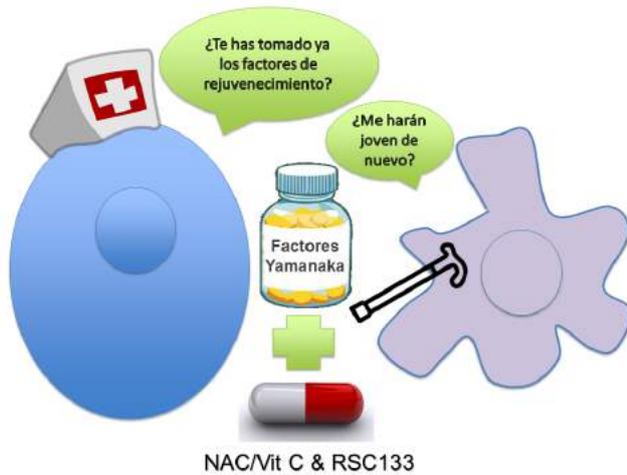


Figura 2. Representación gráfica de los factores necesarios para rejuvenecer la célula. Por un lado, los factores de Takahashi para inducir la pluripotencialidad y por otro lado antioxidantes como Vitamina C o NAC (N-Acetil-Cisteína) y la pequeña molécula RSC133 para superar el estado senescente de las células. Adicionalmente la expresión transitoria de la telomerasa podría incrementar las probabilidades de éxito del proceso. Fuente: Elaboración propia

Gracias a estas dos aproximaciones se ha conseguido obtener iPSCs *in vitro* de individuos envejecidos, incluso centenarios. Sin embargo, para poder obtener un tejido rejuvenecido existen varios obstáculos que superar. Continuar optimizando los procedimientos de transfección (1); de diferenciación celular para poder obtener una población de iPSCs homogénea que sea capaz de diferenciarse en un mismo tipo celular (2) y; que se integren correctamente en el tejido a reparar (3). Por ello, obtener órganos e incluso organismos rejuvenecidos es mucho más complicado porque requeriría un rejuvenecimiento sistémico, ya que una vez se trasplantan las células éstas volverían a envejecer ante las señales estresantes del medio. Adicionalmente hay que añadir el carácter multifactorial del envejecimiento, donde el estilo de vida así como el fondo genético del individuo influyen sobre el proceso.

Terapia génica y terapia celular, una herramienta combinada

En la actualidad, las iPSCs obtenidas a partir de pacientes con algún defecto genético se cultivan y diferencian para modelar dicha enfermedad *in vitro*, y adicionalmente realizar un *screening* de fármacos^[10]. ¿Y si se pudieran corregir estos defectos? Se podrían obtener células somáticas sanas a partir de individuos con un defecto genético gracias a la edición del genoma de las iPSCs generadas del paciente. En este principio se basan las nuevas estrategias que pretenden combinar la obtención de iPSCs junto con la revolucionaria tecnología de edición del genoma CRISPR-CAS9^[16]. Estas tecnologías no solamente podrían ayudar a corregir el defecto genético, sino también a mejorar tanto los protocolos de obtención y diferenciación de iPSCs^[16]. Esto se lograría mediante el bloque de la expresión de ciertos genes, como *DOT1L*^[10] que dificulta la reprogramación de células senescentes. A pesar de ello, siguen habiendo grandes obstáculos que superar: Es prácticamente imposible a la par que altamente costoso rejuvenecer todas las células de un individuo adulto. Por tanto, esta terapia está encaminada a rejuvenecer tejidos concretos e incluso órganos con una patología determinada. De esta forma, podrían tratarse enfermedades como la distrofia muscular de Duchenne^[18], caracterizada por un defecto genético en la distrofina. Mediante CRISPR-CAS9 sobre iPSCs del paciente se generarían células rejuvenecidas que tuvieran subsanado este defecto genético. Posteriormente, habría que realizar una cirugía al paciente para sustituir el tejido muscular dañado y comprobar si existe una correcta integración del trasplante. Diferentes estrategias para tratar la distrofia muscular de Duchenne se han probado, y precisamente la integración de las nuevas células musculares parece ser uno de los mayores obstáculos que superar, debido principalmente a la posibilidad de rechazo. Por tanto, si dicho procedimiento se lleva a cabo con iPSCs generadas del propio paciente los riesgos se minimizarían.

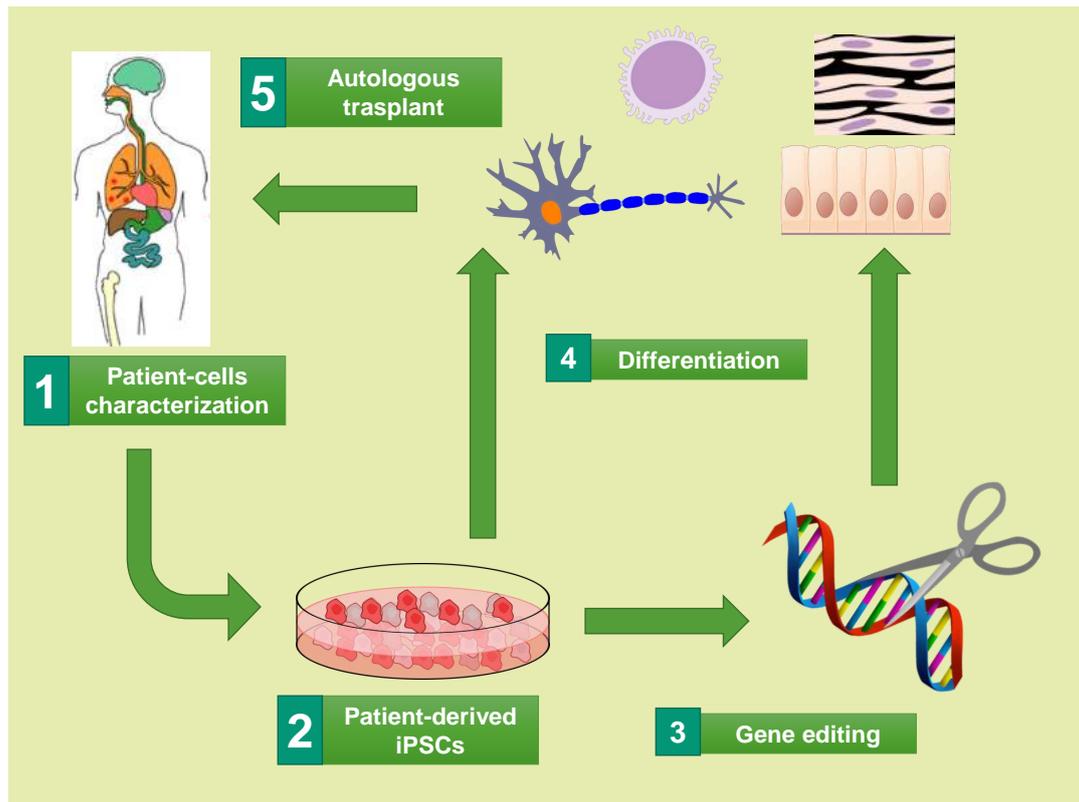


Figura 3. Representación esquemática del procedimiento a seguir como tratamiento para rejuvenecer células, tejidos u órganos. Primeramente habría que realizar una caracterización del paciente del que se obtendrían iPSCs. Posteriormente, se aplicarían estrategias de edición de genoma para corregir mutaciones o defectos genéticos y se diferenciarían las células para llevar a cabo un trasplante autólogo. Alternativamente, si el paciente carece de mutaciones corregibles o severas podría realizarse la diferenciación de iPSCs directamente para proceder a su trasplante. Fuente: Elaboración propia.

Conclusión

El descubrimiento de las nuevas tecnologías de generación de iPSCs y CRIPR-CAS9 han abierto nuevos horizontes en la investigación dentro del campo de la biomedicina. Concretamente, se ha comprobado como efectivamente la reprogramación celular a través de iPSC tiene un efecto rejuvenecedor para las células. Sin embargo, aún no se ha conseguido diferenciar las iPSCs en todos los tipos celulares del organismo, dado que no todos los protocolos de diferenciación están optimizados. Por ello, dentro del campo del rejuvenecimiento celular, una de las estrategias que se siguen actualmente consiste en reactivar los mecanismos rejuvenecedores mencionados anteriormente, sin llegar a desdiferenciar las células hasta el estado de pluripotencialidad. El hecho de comprender mejor como ocurre la activación de estos mecanismos durante la inducción de la pluripotencialidad celular es clave para rejuvenecer las células, ya que generar iPSCs para rediferenciarlas en el mismo tipo celular, además de ser altamente costoso, supone un rodeo poco eficiente. Además, la tecnología de CRISPR-CAS9 permite no solo opti-

mizar aún más el protocolo de generación de iPSCs y a dirigir su diferenciación, sino para corregir incluso defectos genéticos presentes en el paciente. De manera que la optimización y el uso combinado de ambas terapias podría suponer una cura efectiva y viable para patologías relacionadas con el envejecimiento del organismo.

Referencias

- ¹Williams G. George Williams antagonistic pleiotropy theory of aging. *Evolution* 11(4): 398-411, 1957.
- ²Kirkwood T. Evolution of ageing. *Mechanisms of ageing and development* 123(7) 37-745, 2002.
- ³López-Otín C y otros. The hallmarks of aging. *Cell* 153(6): 1194-1207, 2013.
- ⁴Zhang R y otros. The Four Layers of Aging. *Cell Systems* 1(3): 180-186 <http://doi.org/10.1016/j.cels.2015.09.002>.
- ⁵Geiger H y Jasper H. Stem Cell Aging: Mechanisms, Consequences, Rejuvenation. *Vienna: Springer Vienna*, 2015.
- ⁶Garatachea N y otros. Exercise Attenuates the Major Hallmarks of Aging. *Rejuvenation Research*, 18(1): 57-89, 2015. <http://doi.org/10.1089/rej.2014.1623>.
- ⁷Lee J y otros. Beta-Lapachone, a Modulator of NAD Metabolism, Prevents Health Declines in Aged Mice. *PLoS ONE*, 7(10), 2012 <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0047122>.
- ⁸Takahashi, K. y Yamanaka, S. (2006). Induction of Plu-

- ripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*, 126(4), 663–676. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
- ⁹Takahashi K y otros. Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*, 131(5):861–872, 2007.
- ¹⁰Soria-Valles C y López-Otín C. iPSCs: On the Road to Reprogramming Aging. *Trends in Molecular Medicine*, vol. xx: 1–12, 2016.
- ¹¹Oh J y otros. Stem cell aging: mechanisms, regulators and therapeutic opportunities. *Nature Medicine*, 20(8):870–880, 2014. <http://doi.org/10.1038/nm.365>.
- ¹²Rando S y otros. Aging, rejuvenation, and epigenetic reprogramming: Resetting the aging clock. *Cell*, 148(1–2):46–57, 2012. <http://doi.org/10.1016/j.cell.2012.01.003>.
- ¹³Pareja-Galeano H y otros. iPSCs-based anti-aging therapies: Recent discoveries and future challenges. *Ageing Research Review*, 27:37–41, 2016.
- ¹⁴Nguyen A y otros. The diverse functions of Dot1 and H3K79 methylation. *Genes and development*; 3:1345–1358. <http://doi.org/10.1101/gad.2057811.ute>
- ¹⁵Rony I y otros. Inducing pluripotency in vitro: Recent advances and highlights in induced pluripotent stem cells generation and pluripotency reprogramming. *Cell Proliferation*, 48(2):140–156, 2015. <http://doi.org/10.1111/cpr.12162>.
- ¹⁶Mojica FJM y otros. Short motif sequences determine the targets of the prokaryotic CRISPR defence system. *Microbiology*, 155(3): 733–740, 2009.
- ¹⁷Merkle FT y otros. Efficient CRISPR-Cas9-Mediated Generation of Knockin Human Pluripotent Stem Cells Lacking Undesired Mutations at the Targeted Locus. *Cell Reports*, 11(6):875–883, 2015.
- ¹⁸Guiraud, S y otros. Advances in genetic therapeutic strategies for Duchenne muscular dystrophy. *Experimental Physiology* 12:1458–1467,2015. <http://doi.org/10.1113/EP085308>.
-
-

Ámbito y política editorial

La revista *Encuentros en la Biología* (ISSN 1134-8496) es una revista de divulgación científica con carácter interdisciplinar, está editada por la Universidad de Málaga y publica periódicamente (primavera, verano, otoño, invierno) aquellas contribuciones originales que se enmarcan en un ámbito de encuentro entre las ciencias biológicas y las demás fuentes de conocimiento científico; esto es, conocimiento testado experimentalmente y avalado al menos por una fuente primaria de documentación. Aceptará también la edición de biografías de autores relevantes, de reseñas de libros y trabajos especializados, de imágenes para la portada, la sección «La imagen comentada» y otras secciones especializadas, así como noticias, comunicaciones y eventos relacionados con la biología. La editorial valorará positivamente la contribución de los trabajos en un formato ameno y accesible para estudiantes y profesores de todas las áreas de la biología, al igual que la presentación de las últimas novedades científicas en este área.

Encuentros en la Biología es un foro de difusión abierto para todas aquellas personas que estén interesadas en enviar sus aportaciones. Las contribuciones así presentadas deberán ajustarse a la política editorial y a las normas que a continuación aparecen como «Instrucciones para los Autores». La revista se reserva el derecho a realizar cuantas modificaciones en forma y diseño estime oportunas.

Instrucciones para los autores

1. Todas las contribuciones presentadas deberán ser inéditas o contar con la autorización expresa del organismo que posea los derechos para su reproducción, en cuyo caso la edición incluirá la referencia de su autoría. Los manuscritos recibidos serán además sometidos a revisión con medios técnicos para detección de plagios.
2. Cada contribución constará de un título, el nombre completo del autor o autores, su afiliación (institucional, académica o profesional), su dirección postal, correo electrónico y teléfono. Para distinguir la afiliación de diferentes autores utilice símbolos (*, †, ‡, §, ¶, etc.) después del nombre de cada uno.
3. El documento se puede enviar en formato txt, rtf, sww/odt (OpenOffice/LibreOffice), doc/docx (MS-Word) o tex (LaTeX). Debido a las restricciones de espacio, la extensión no debe superar las 1600 palabras; en caso contrario, el editor se reserva el derecho a dividirlo en varias partes que aparecerían en números distintos.
4. Los nombres de las proteínas se escribirán en mayúsculas y redondilla (ABC o Abc). Los de genes y especies aparecerán en cursiva (*ABC*, *Homo sapiens*). También se pondrán en cursiva los términos que se citen en un idioma distinto al castellano.
5. Los autores que no sean castellanohablantes pueden remitir sus manuscritos en inglés. Una vez aceptado, el equipo editorial elaborará un resumen en castellano.
6. Las tablas, figuras, dibujos y demás elementos gráficos deberán adjuntarse en ficheros independientes. Cuando sea posible, utilice el formato vectorial no propietario pdf, svg, eps o ps. En caso de fotografías o figuras tipo *bitmap* se pueden enviar en formato jpg, tif o png con una resolución mínima de 300 ppp. Existe la posibilidad de incorporar breves animaciones en formato gif a baja resolución.
7. Las referencias bibliográficas se citarán dentro del propio texto, numeradas por orden de aparición. Al final del mismo, se incluirá la sección de *Bibliografía* o *Referencias* de acuerdo con el estilo del siguiente ejemplo:
¹Einstein Z y Zwestein D. Spatial integration in the temporal cortex. *Res Proc Neurophysiol Fanatic Soc* 1: 45-52, 1974.
²Sóbol I. *Método de Montecarlo*. MIR, Moscú. 1976.
 Si hay más de dos autores, se citará el primero seguido de «y otros».
 Si el texto principal no incluye referencias bibliográficas, se ruega a los autores que aporten 3-4 referencias generales «para saber más» o «para más información».
8. Se anima a contribuir a la sección *la imagen comentada* con imágenes originales o de libre distribución (300 ppp de resolución como mínimo) acompañadas en documento aparte con un breve comentario de unas 300 palabras relacionado con la misma (descripción, información, técnica, etc.).
9. Se considerará cualquier contribución para las distintas secciones de la revista.
10. Envío de contribuciones: el original se enviará por correo a los coeditores o a cualquier otro miembro del comité editorial que consideren más afín al tema de la contribución. Como último recurso, se pueden enviar por correo postal acompañados de un CD. No se devolverá ningún original a los autores.
11. La aceptación de todas las contribuciones se hará a petición de los miembros del equipo editorial, manteniendo en todo caso los co-editores la decisión final sobre la misma. También se podrá sugerir al autor mejoras formales o de contenido para adaptar el artículo al perfil de la revista. La notificación se enviará por correo electrónico al autor que figure como corresponsal.