



Envejecimiento, Restricción Calórica y Expresión Génica

Daniela Andrea Baquero González

Trabajo Fin de Grado

Grado en Nutrición Humana y Dietética

Directora:

Patricia Meade Huerta

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular

Universidad de Zaragoza
Facultad de Ciencias de la Salud y del Deporte
Huesca, España
2015



Dedicatoria

Dedico este proyecto a mis padres, quienes me han motivado a seguir
adelante pese a las dificultades.

No existe el fracaso, salvo cuando dejamos de esforzarnos
(Jean-Paul Marat)

Resumen

El envejecimiento es un proceso endógeno, continuo, universal e irreversible. Existen factores exógenos, como la radiación ultravioleta y los oxidantes de la dieta, que pueden interactuar con las causas endógenas modificando sus efectos. Numerosos estudios han relacionado la dieta de restricción calórica con un envejecimiento saludable, sin embargo, los mecanismos implicados todavía no están completamente claros. Diversas evidencias sugieren que la reducción del daño oxidativo, los cambios en la expresión génica y los mecanismos epigenéticos contribuyen al efecto de la nutrición sobre la longevidad.

En el presente trabajo se pretende mostrar la importancia de la influencia de la dieta como factor exógeno de manipulación más eficaz, sobre la expresión génica y los mecanismos epigenéticos, y su relación con el proceso de envejecimiento. Con este fin, se ha realizado una selección de los estudios científicos más destacados, publicados en los últimos años y que han aportado nuevo conocimiento en esta área.

Palabras claves: restricción calórica, epigenética, nutrigenómica, nutrigenética, genes, envejecimiento.

Abstract

Aging is an endogenous, continuous, universal and irreversible process. There exogenous factors such as ultraviolet radiation and oxidants in the diet, which can interact with endogenous causes changing effects. Numerous studies have linked caloric restriction diet with healthy aging, however, the mechanisms involved are still not completely clear. Several evidences suggest that reduction oxidative damage, changes in gene expression and epigenetic mechanisms contribute to the effect of nutrition on longevity.

The aim of the present work is to evaluate the influence of diet on gene expression and epigenetic mechanisms and their relationship with the aging process, as the exogenous factor of more efficient handling. To this end, we had made a selection of the most important scientific studies published in recent years that have contributed new knowledge in this area.

Keywords: Calorie Restriction, epigenetic, nutrigenomics, nutrigenetics, genes, aging.

Contenido

	Página
I. INTRODUCCIÓN	6-10
II. JUSTIFICACIÓN	11
III. OBJETIVOS	12
IV. METODOLOGÍA	12
V. CAPÍTULO 1. ANTIOXIDANTES Y SU IMPORTANCIA EN EL ENVEJECIMIENTO	13-16
1. Introducción	13
2. Líneas de defensa ante los radicales libres	13-16
2.1. Resistencia de los componentes estructurales celulares a la lesión oxidativa. Primera línea de defensa.....	13-14
2.2. La diversidad de antioxidantes. Segunda línea de defensa.....	14-16
3. Estrés oxidativo, envejecimiento y longevidad	16
4. Conclusión	16
VI. CAPÍTULO 2. RESTRICCIÓN CALÓRICA Y ENVEJECIMIENTO	17-37
1. Introducción	17
2. Relación entre la restricción calórica y envejecimiento	17-20
3. Estudios en animales	20-24
3.1. Levaduras	20
3.2. Ratas	20-21
3.3. Ratones	21-22
3.4. Monos Rhesus	22-24
4. Estudios en seres humanos	24-28
5. Genes afectados por la restricción calórica	28-33
6. Míméticos de la restricción calórica	33-37
6.1. Resveratrol	33-34
6.2. Oligoelementos	35-37
6.3. Ayuno intermitente	37
7. Conclusión	37
VII. CAPÍTULO 3. EPIGENÉTICA Y ENVEJECIMIENTO	38-45
1. Introducción.....	38
2. Epigenética y envejecimiento.....	38-44

2.1. <i>La metilación del ADN durante el proceso de envejecimiento</i>	39-40
2.2. <i>Modificación de las histonas durante el proceso de envejecimiento</i>	40-44
2.2.1. <i>Acetilación y desacetilación de las histonas</i>	40
2.2.2. <i>Sirtuinas 1 y sus sustratos</i>	40-43
2.2.3. <i>Metilación de histonas</i>	43-44
3. <i>Epigenética y nutrientes</i>	45
4. <i>Conclusión</i>	45
VIII. CAPÍTULO 4. NUTRIGENÓMICA Y ENVEJECIMIENTO	46-52
1. <i>Introducción</i>	46
2. <i>La nueva ciencia de la nutrigenómica</i>	46-48
3. <i>Nutrigenómica y nutrientes</i>	48-50
3.1. <i>Ácidos grasos</i>	48-49
3.2. <i>Hidratos de carbono</i>	49
3.3. <i>Proteínas</i>	49
3.4. <i>Vitaminas</i>	49-50
3.5. <i>Flavonoides y polifenoles</i>	50
3.6. <i>Minerales</i>	50
4. <i>Nutrigenómica y longevidad</i>	51-52
4.1. <i>Interacciones gen-nutriente</i>	51
4.2. <i>Interacciones gen-dieta en las enfermedades crónicas multifactoriales relacionadas con la edad</i>	51-52
5. <i>Conclusión</i>	52
IX. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	53-54
X. BIBLIOGRAFÍA	55-58

I. INTRODUCCIÓN

El deseo de una vida eterna o el ser joven para siempre ha atormentado a la Humanidad a lo largo de los siglos. No es de extrañar el encontrar historias que narran la búsqueda desesperada de la inmortalidad, llevando al ser humano a practicar técnicas extremas, como es el caso de la duquesa Isabel Bathory entre los siglos XVI y XVII, cuyo método para vivir eternamente era bañarse con sangre de campesinos, o técnicas no tan extremas como la ejercida por el conde de Sant Germain en el siglo XVIII, en la que destaca su famosa búsqueda por “la piedra filosofal” que le proporcionaría la inmortalidad mediante la panacea universal de erradicar cualquier enfermedad.

En la actualidad, se sabe que el envejecimiento es un proceso continuo, universal e irreversible que determina una pérdida progresiva de la capacidad de adaptación. En los individuos mayores sanos, muchas funciones fisiológicas se mantienen normales en un estado basal, pero al ser sometidos a estrés se revela la pérdida de las reservas funcionales. También se considera el envejecimiento como un proceso endógeno, y a su vez, se conoce que hay factores exógenos como la radiación ultravioleta y los oxidantes de la dieta que pueden interactuar con las causas endógenas potenciando o reduciendo sus efectos.

El envejecimiento primario, es el proceso que implica una serie de cambios graduales biológicos, psicológicos y sociales asociados a la edad, que son intrínsecos e inevitables y ocurren como consecuencia del paso del tiempo. Se entiende a su vez por envejecimiento secundario, los cambios que se producen como consecuencia de enfermedades, malos hábitos, etc., que no forman parte del envejecimiento primario y que, en algunos casos pueden prevenirse o son reversibles.

Es importante entender los conceptos de longevidad máxima y longevidad media. La longevidad máxima está genotípicamente determinada y se define como la estimación máxima de años que puede vivir una persona, se sabe que para la especie humana es de 120-125 años, mientras que la longevidad media o esperanza de vida, se define como el índice o porcentaje que se toma en cuenta para determinar cuánto se espera que viva una persona en un contexto social determinado, dato que varía según países. En España la esperanza de vida es de 80 años en varones y 86 en mujeres según los últimos datos recogidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Teorías del envejecimiento

Las teorías para explicar el proceso de envejecimiento se han dividido en dos grandes categorías: el envejecimiento predeterminado (teorías no estocásticas), y el envejecimiento como resultado

de la suma aleatoria de alteraciones que se acumulan a lo largo del tiempo (teorías estocásticas).

Dentro de las teorías no estocásticas se agrupan la teoría del marcapasos y la teoría genética, mientras que dentro de las teorías estocásticas están la teoría del error catastrófico, la teoría de entrecruzamiento, la teoría del desgaste y la teoría de los radicales libres (envejecimiento como producto del metabolismo oxidativo).

Teoría del desgaste

Esta teoría propone que cada organismo estaría compuesto de partes irremplazables, y que la acumulación de daño en sus partes vitales llevaría a la muerte de las células, tejidos, órganos y finalmente del organismo. La capacidad de reparación del ADN se correlaciona positivamente con la longevidad de las diferentes especies.

Teoría genética

El factor genético es un importante determinante del proceso de envejecimiento, aunque no se conocen exactamente los mecanismos involucrados.

Evidencias del control genético de la longevidad

En los dos síndromes de envejecimiento prematuro (S. De Werner y Progeria), en los cuales los niños mueren de enfermedades relacionadas al envejecimiento, hay una alteración genética autosómica hereditaria. A nivel celular es conocido el fenómeno de apoptosis, o muerte celular programada.

En el hombre, células de piel fibroblastos obtenidas de recién nacidos se pueden dividir 60 veces, células de adultos viejos se dividen 45 veces, las células de sujetos con Síndrome de Werner se dividen 30 veces solamente. Hasta la fecha se conocen 4 grupos de genes en los cromosomas 1 y 4, que dan información sobre cese de la división celular (genes inhibidores).

Se sabe también que existen oncogenes estimuladores del crecimiento, los cuales al activarse determinan división celular infinita, lo que resulta en una célula inmortal (cancerosa).

En conclusión, existe fuerte evidencia de un control genético del proceso de envejecimiento, tanto a nivel celular como del organismo en su totalidad.

Teoría de los radicales libres

Una de las teorías del envejecimiento plantea la idea de que las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS), especialmente las de origen mitocondrial, están relacionadas con el proceso básico de envejecimiento. Hoy en día, se conoce que en condiciones fisiológicas-metabólicas

normales las mitocondrias son responsables del consumo de oxígeno celular y son la fuente más importante de generación de radicales libres derivados del oxígeno. Los ROS son bastante inestables, reactivos y poseen una capacidad potencial de modificar (dañar) químicamente cualquier macromolécula biológica, como por ejemplo el ADN. Durante el proceso de reducción química del oxígeno a agua en la cadena respiratoria mitocondrial para generar energía en forma de ATP, se forman radicales libres como el radical superóxido, radical hidroxilo y el no-radical peróxido de hidrógeno que se pueden escapar de la cadena respiratoria y causar lesiones tisulares, favoreciendo así el proceso de envejecimiento.

En el presente, se conoce que hay diferentes líneas de defensa para combatir los ROS. La primera línea de defensa viene determinada por la propia susceptibilidad, entendida como la facilidad para sufrir la lesión oxidativa por parte de las moléculas biológicas. De las cuatro bases presentes en los nucleótidos que forman el ADN, la guanina es la más fácilmente oxidable. Los ácidos grasos insaturados son extremadamente sensibles a la oxidación y la glucosa es la molécula más estable y menos reactiva en comparación a los carbohidratos que participan como intermediarios siendo más inestables y reactivos. En la especie humana, la guanina es la menos abundante en el ADN mitocondrial, los ácidos grasos insaturados son menos abundantes en las membranas y los carbohidratos intermediarios metabólicos se encuentran en menor cantidad. Esto se conoce como evolución biomolecular, reduciendo relativamente la abundancia de los componentes estructurales altamente susceptibles a las lesiones oxidativas sin renunciar a ellos del todo. La segunda línea de defensa que podemos destacar son los antioxidantes tanto de tipo enzimático como no-enzimático. De origen enzimático se encuentran las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (Gpx) y catalasa (CAT) y de origen no-enzimático el glutatión (GSH), el ascorbato (vitamina C) y las vitaminas A y E. Todos estos contribuyen a mantener la homeostasis del estrés oxidativo aunque su eficiencia no es del 100% ya que los antioxidantes, a pesar de estar implicados en la protección contra diversas patologías relacionadas con la edad, no parece que participen en el control de la velocidad del envejecimiento. Aun con todo, su relación con la longevidad máxima sugiere que la producción endógena de radicales libres debe ser inferior en especies longevas que en las de longevidad corta, es decir, cuanto más longeva es una especie menor producción de radicales libres y menos actividad de sus sistemas antioxidantes, por el contrario, cuanto menos longeva es la especie mayor producción de ROS y mayor concentración de antioxidantes.

Así bien se sabe que el disminuir la producción de ROS tendrá un papel primordial en el control del proceso de envejecimiento.

Restricción calórica

La situación de todo ser vivo, y por supuesto del ser humano, es el resultado de la interacción entre su individualidad y su entorno. La nutrición es considerada la más esencial de las necesidades humanas y la alimentación es, probablemente, el factor ambiental que más influye en el desarrollo y la función de los organismos.

La sociedad en la que vivimos va evolucionando y, aunque a principios del siglo pasado, cuando se hablaba de alimentación se pensaba en su disponibilidad y cantidad, ya que éstos eran escasos y la prioridad era poder conseguirlos. Actualmente, en las sociedades de nuestro entorno la situación ha cambiado de manera notable pues disponer de alimentos ya no es una limitación y lo que preocupa es lo que comemos, cómo lo comemos y cuánto comemos. En este sentido, la conducta alimentaria representa uno de los aspectos con importante repercusión directa o indirecta sobre la salud.

La restricción calórica (RC) consiste en la administración de una dieta equilibrada y suficiente desde el punto de vista nutricional pero restringida desde el punto de vista del aporte calórico total con el objetivo de mejorar la salud y retrasar el envejecimiento.

En 1935, McCay y colaboradores publicaron el primer estudio que muestra que la restricción alimenticia sin desnutrición aumenta la vida media y máxima en ratas (3). A partir de este hecho, varios grupos de investigación han demostrado que la ingesta de alimentos sin desnutrición retrasa el envejecimiento, y resulta en una extensión del lapso de salud y vida marcada en levaduras, moscas de la fruta, gusanos, nematodos, peces, hámsters, y en una amplia variedad de cepas de ratones y ratas. Según los estudios, estos animales no sólo viven una vida más duradera y saludable sino que fisiológicamente son más jóvenes que los animales alimentados *ad libitum*. Numerosos estudios han relacionado la dieta de restricción calórica con un envejecimiento saludable, sin embargo, los mecanismos implicados todavía no están completamente claros. Diversas evidencias sugieren que la reducción del daño oxidativo, los cambios en la expresión génica y los mecanismos epigenéticos contribuyen al efecto de la nutrición sobre la longevidad.

Epigenética

En la actualidad, conocemos como epigenética al estudio de los cambios heredables en el ADN y en las histonas que no implican alteraciones en la secuencia de nucleótidos y modifican la estructura y condensación de la cromatina por lo que afectan la expresión génica y el fenotipo. Las modificaciones epigenéticas más comunes son la metilación del ADN y la modificación de

las histonas. Estudios recientes sugieren la existencia de una correlación entre la epigenética, la restricción calórica y la longevidad. Además, se ha demostrado que la epigenética puede retrasar el proceso de envejecimiento y que las marcas epigenéticas pueden servir como biomarcadores para muchas enfermedades relacionadas con la edad.

Nutrigenómica

En los últimos años, ha surgido el término nutrigenómica como el estudio del efecto de la variación genética en la interacción entre dieta y enfermedad con el objetivo de generar recomendaciones relacionadas con los riesgos y beneficios de las dietas o componentes dietéticos específicos. Los estudios muestran cómo individuos sometidos a restricción calórica, presentan diferentes respuestas en la expresión de genes, por lo que promover estrategias de nutrición personalizadas basadas en la genética puede reducir la aparición de enfermedades relacionadas con la edad permitiendo así la extensión de la vida.

En el presente trabajo se pretende mostrar la importancia de la influencia de la dieta, como factor exógeno de manipulación más eficaz, y más concretamente de la restricción calórica (RC), sobre la expresión génica y los mecanismos epigenéticos, y su relación con el proceso de envejecimiento. Con este fin, se ha realizado una selección de los estudios científicos más destacados, publicados en los últimos años y que han aportado nuevo conocimiento en esta área.

II. JUSTIFICACIÓN

El envejecimiento es un proceso continuo, universal e irreversible que determina una pérdida progresiva de la capacidad de adaptación. En la actualidad es considerado una cuestión científica de primera magnitud, con el ideal de conseguir vivir, si no más, sí con una mejor calidad de vida.

Por otro lado, en la sociedad actual el estilo de vida en los países occidentales ha llevado a una ingesta desmesurada de calorías causando el desarrollo temprano de enfermedades que acortan y disminuyen la calidad de vida. Sin embargo, numerosos estudios han demostrado que la restricción calórica (RC) sin malnutrición es la manipulación experimental mejor conocida que disminuye la tasa de envejecimiento y aumenta la longevidad máxima, con efectos beneficiosos para la salud.

En el presente trabajo se analizan los avances recientes en el campo del envejecimiento, desde el punto de vista nutrigenómico y epigenético, además de la estrecha relación que existe entre la ingesta de una dieta marcada por la restricción calórica y la longevidad máxima, asociada a una mejor calidad de vida, valorando sus beneficios, posibles alternativas y su efecto sobre la expresión génica.

III. OBJETIVOS

Objetivo general

El objetivo de este trabajo consiste en realizar un estudio de los avances recientes en el conocimiento del envejecimiento desde el punto de vista genético y nutricional.

Objetivos específicos

- Evaluar los efectos de la ingesta de una dieta caracterizada por una restricción calórica sobre la extensión de la vida media y máxima.
- Evaluar los cambios genéticos que se manifiestan con la ingesta de una dieta caracterizada por una restricción calórica.
- Evaluar los mecanismos epigenéticos como metilaciones del ADN o acetilación de histonas que se han asociado con el proceso de envejecimiento.
- Evaluar el papel de la nutrigenómica en el estudio del efecto de la nutrición sobre el proceso de envejecimiento y el desarrollo y progresión de enfermedades relacionadas con la edad.

IV. METODOLOGÍA

Con la finalidad de alcanzar el objetivo de este estudio, se realizó una revisión bibliográfica centrada en artículos científicos publicados en los últimos años en revistas científicas de interés general. Se consultaron diferentes bases de datos actualizadas nacionales e internacionales, destacando PubMed (Medline, National Library of Medicine, NIH, EE UU), SciELO (Scientific Electronic Library Online, Brasil) e Ibecs (Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud España).

Se hizo una selección de las revisiones bibliográficas más destacadas para cada uno de los apartados. Además, fueron revisados y valorados diversos artículos de investigación originales que permitieron destacar los hallazgos más relevantes de cada uno de los capítulos.

El criterio de selección de la información se basó en el grado de evidencia científica y criterios personales de la tutora y la autora del trabajo.

V. CAPÍTULO 1. ANTIOXIDANTES Y SU IMPORTANCIA EN EL ENVEJECIMIENTO

1. Introducción
 2. Líneas de defensa ante los radicales libres
 3. Estrés oxidativo, envejecimiento y longevidad
 4. Conclusión
-

1. Introducción

Un antioxidante es una molécula que inhibe o retrasa la lesión oxidativa derivada de los radicales libres en una molécula diana, por ejemplo el ADN. Lesión oxidativa es un concepto amplio utilizado para describir ataques y modificaciones químicas, perpetrado sobre las moléculas biológicas. Estas lesiones oxidativas en macromoléculas como el ADN son las causantes del proceso de envejecimiento, entendiendo el envejecimiento como un proceso degenerativo, universal, progresivo e irreversible. La protección celular contra la lesión oxidativa incluye desde la eliminación de las especies reactivas de oxígeno (ROS) hasta la reparación, si es posible de la lesión. Por ello, los antioxidantes sirven como línea de defensa en el mantenimiento de la homeostasis del estrés oxidativo celular, aun con todo, los antioxidantes no eliminan los radicales libres al 100%, ya que se siguen detectando lesiones celulares.

2. Líneas de defensa ante los radicales libres

2.1. Resistencia de los componentes estructurales celulares a la lesión oxidativa. Primera línea de defensa.

La primera línea de defensa viene determinada por la propia susceptibilidad de las moléculas biológicas, es decir, su facilidad para sufrir la lesión oxidativa. En este aspecto, cabe destacar:

- La metionina y, por consiguiente, los aminoácidos sulfurados son aminoácidos más fácilmente oxidables.
- La guanina, una de las cuatro bases nitrogenadas que forman parte de los nucleótidos, posee el potencial de oxidación más bajo, y por ello es más fácilmente oxidable.

- Los ácidos grasos insaturados son extremadamente sensibles a la oxidación. La sensibilidad de estos ácidos grasos aumenta de forma exponencial en función del número de dobles enlaces por molécula de ácido graso.

- En cuanto a la susceptibilidad de los hidratos de carbono, haciendo mención a los monosacáridos, la glucosa es el más estable y menos reactivo; por el contrario, los carbohidratos que participan como intermediarios en las rutas metabólicas intracelulares son más inestables y susceptibles.

Las pruebas disponibles certifican que en vertebrados (mamíferos y aves, e incluso la especie humana):

- El aminoácido metionina, y en un amplio concepto, los aminoácidos sulfurados son los que en promedio están presentes en un menor porcentaje en las proteínas intracelulares.

- La guanina es el nucleótido menos abundante en el ADN mitocondrial.

- Los ácidos grasos altamente poliinsaturados, con más de dos dobles enlaces por molécula, son los ácidos grasos menos abundantes en las membranas celulares.

- La glucosa es el combustible universal, es el carbohidrato más abundante, mientras que los intermediarios metabólicos son mucho menos abundantes.

En este término, la evolución biomolecular de la vida aeróbica, ha ido desarrollando la reducción de aquellos componentes estructurales altamente susceptibles a la lesión oxidativa, pero sin llegar a renunciar a ellos, proporcionando a las macromoléculas una mayor estabilidad.

2.2. La diversidad de antioxidantes. Segunda línea de defensa.

Existe una amplia defensa de antioxidantes, tanto de tipo enzimático como no-enzimático, actuando como segunda línea de defensa contribuyendo a mantener la homeostasis del estrés oxidativo celular, entre ellos están las enzimas:

- Superóxido dismutasa (SOD)

- Glutación peroxidasa (Gpx)

- Catalasa (CAT)

Son enzimas con actividad antioxidante diseñadas para interactuar e inactivar directamente a los ROS.

La superóxido dismutasa (SOD) elimina el radical superóxido pero no es un antioxidante completo ya que su actividad genera peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Dos enzimas diferentes, pero cinéticamente complementarias, catalasa (CAT) y glutación peroxidasa (Gpx), participan en la

eliminación del peróxido de hidrógeno. La CAT es una de las enzimas más activas y elimina H_2O_2 descomponiéndolo directamente en oxígeno y agua. Sin embargo, muestra una baja afinidad por H_2O_2 , por lo que su eficacia se manifiesta a elevadas concentraciones de H_2O_2 . Por otra parte, la Gpx (tanto la forma selenio dependiente como la no-selenio dependiente) es mucho más funcional a bajas concentraciones de H_2O_2 , puesto que muestra una elevada afinidad por una baja tasa catalítica. La Gpx comparte las mismas localizaciones subcelulares que la SOD, lo que sugiere que la Gpx es la principal enzima que trata el H_2O_2 producido por SOD.

Aparte de las enzimas antioxidantes, destacamos las moléculas no-enzimáticas endógenas que cooperan en el mantenimiento de la homeostasis del estrés oxidativo celular. Tras reaccionar con los ROS, estas moléculas resultan oxidadas, y vuelven a ser reducidas por otras moléculas restableciendo nuevamente su capacidad antioxidante. Debido a que se trata de moléculas de bajo peso molecular, esto les permite eliminar ROS en lugares a los que las grandes enzimas no tienen acceso. Destacamos como moléculas no-enzimáticas dos de los principales antioxidantes del medio acuoso:

- Glutación (GSH)
- Ascorbato (vitamina C)

La actividad antioxidante del GSH reside en el grupo tiol reducido de su residuo de cisteína. El glutati6n puede reaccionar directamente con los ROS o puede actuar como cosustrato de las enzimas Gpx. Adem6s del glutati6n, el ascorbato es el siguiente antioxidante no-enzim6tico m6s abundante. El ascorbato una vez ha reaccionado con los ROS, su forma oxidada puede volver nuevamente a su forma reducida por la actividad de reductasas dependientes de glutati6n y derivados de la vitamina B3 o 6cido nicot6nico.

La SOD, Gpx, CAT, GSH, vitamina C y los sistemas de reparaci6n residen en compartimentos de medio acuoso, por lo que, es necesario destacar los tocoferoles y los carotenoides como antioxidantes que actúan en medio lipof6lico. El principal antioxidante de la membrana es el d-alfa-tocoferol, conocido como vitamina E.

La vitamina E actúa sobre los grupos peroxilo generados en los lípidos de membranas reduciéndolos a hidroperóxidos, inhibiendo de esta forma la propagaci6n de la peroxidaci6n lipídica en una reacci6n en cadena. Por ello, la vitamina E es un antioxidante que corta la secuencia de reacci6n de la peroxidaci6n lipídica, convirtiéndose a sí misma en un radical durante este proceso.

Los carotenoides interceptan el oxígeno singlete e interaccionan con otros ROS a presiones parciales de oxígeno fisiológicas. Uno de los carotenoides más importantes es la coenzima Q, que es hidroquinona sintetizada presente en todas las membranas celulares. Su actividad antioxidante se inhibe a través de su capacidad para interceptar radicales lipídicos y regenerar la vitamina E. La actividad antioxidante de estos interceptores lipofílicos no es eficiente al 100% por lo que en las membranas existe una determinada cantidad de lípidos oxidados (1, 2).

3. Estrés oxidativo, envejecimiento y longevidad

El estrés oxidativo podría estar relacionado con el envejecimiento, en principio, a través de variaciones en la generación de radicales libres, la eliminación mediada por los antioxidantes, o ambos. Los antioxidantes, pese a estar implicados en la protección contra diversas patologías asociadas con la edad, no parecen tomar parte en el control de la velocidad del envejecimiento.

En primer lugar, se sabe que los niveles endógenos de antioxidantes en los tejidos no disminuyen durante el envejecimiento en condiciones fisiológicas normales y con una alimentación equilibrada. En segundo lugar, los niveles en tejidos de enzimas antioxidantes y antioxidantes endógenos de bajo peso molecular correlacionan negativamente con la longevidad máxima de mamíferos y otros vertebrados, es decir, cuanto más longeva es una especie animal, menor concentración o actividad de sus sistemas antioxidantes. En tercer lugar y por último, una suplementación de antioxidante en la dieta, ya sea inducida farmacológicamente o mediante técnicas transgénicas, algunas veces y de forma moderada aumenta la longevidad media pero no se modifica la longevidad máxima.

4. Conclusión

La evolución biomolecular ha llevado al desarrollo de líneas de defensa ante las lesiones oxidativas, dando lugar a una mayor estabilidad de las macromoléculas (ej. ADN), pero no son del todo suficientes. Por ello, es de gran importancia el consumo de fuentes exógenas de antioxidantes a través de nuestra alimentación, ya que los antioxidantes pueden proteger de forma no específica contra aquellas patologías que causan muerte precoz como son el cáncer, enfermedades del corazón, etc. Estas líneas de defensas de origen endógeno y exógeno permiten mantener un equilibrio de la homeostasis del estrés oxidativo reduciendo el desarrollo de enfermedades y el aumento de la longevidad media o expectativa de vida.

VI. CAPÍTULO 2. RESTRICCIÓN CALÓRICA Y ENVEJECIMIENTO

1. Introducción
 2. Relación entre restricción calórica y envejecimiento
 3. Estudios en animales
 4. Estudios en seres humanos
 5. Genes afectados por la restricción calórica
 6. Miméticos de la restricción calórica
 7. Conclusión
-

1. Introducción

La restricción calórica (RC) consiste en la administración de una dieta equilibrada y suficiente desde el punto de vista nutricional pero restringida desde el punto de vista del aporte calórico total con el objetivo de mejorar la salud y retrasar el envejecimiento.

La nutrición es el factor ambiental más estudiado por su importante repercusión sobre las funciones y estructuras orgánicas, principalmente durante periodos críticos del desarrollo y crecimiento, y por su importante repercusión en la longevidad. El descubrimiento de los efectos de la restricción calórica (RC) en el incremento de la longevidad ha abierto un campo de investigación básica-aplicada que trata de adecuar la ingesta a la consecución del mejor estado de salud.

2. Relación entre restricción calórica y envejecimiento

Los estudios de Restricción Calórica (RC) demuestran que es la manipulación experimental más efectiva que se conoce para disminuir la tasa de envejecimiento y aumentar la longevidad máxima (Figura 1), produciendo a su vez efectos beneficiosos en la salud como la reducción de enfermedades asociadas con la edad como son el cáncer, la obesidad, la diabetes, enfermedades autoinmunes, cardiovasculares, neurodegenerativas, etc. Desde el primer estudio realizado por

McCay y colaboradores (3) indicando que la RC aumentaba la longevidad máxima en ratas, se han realizado cientos de estudios que demuestran como la RC retrasa el envejecimiento en levaduras, moscas, gusanos, peces, ratones, ratas y primates. En concreto, en estudios con ratas y ratones sometidos a una RC sin malnutrición se observó un retraso en el envejecimiento primario, que se entiende como un proceso inevitable, caracterizado por la disminución progresiva de la estructura del tejido y la función biológica que se produce con la edad, siendo independiente de enfermedad, estilo de vida y factores ambientales perjudiciales. Como consecuencia disminuía notablemente la incidencia de neoplasias y producía un efecto protector contra el envejecimiento secundario, caracterizado por el deterioro de la estructura del tejido y la función biológica que es secundaria a procesos de enfermedades y factores ambientales (4).

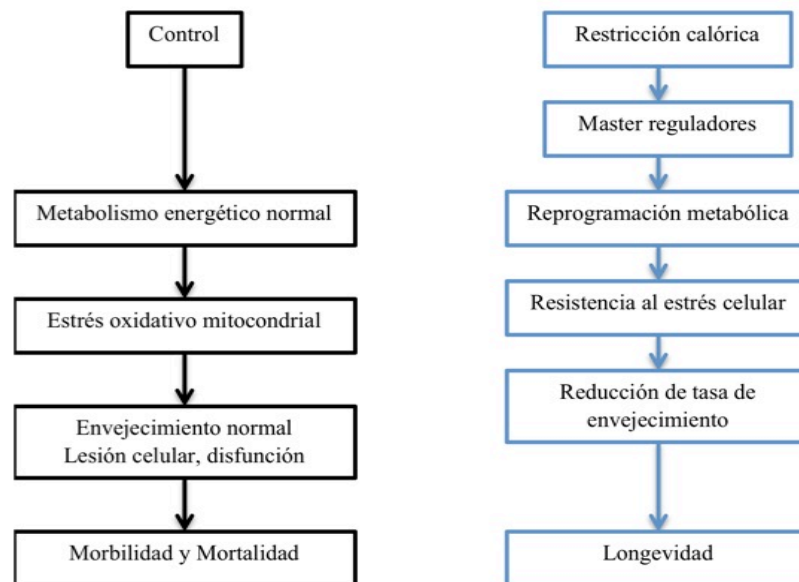


Figura 1. La restricción calórica induce una reprogramación del metabolismo energético que conduce a un aumento de la longevidad. Fuente: de Lorenzo D., *Nutrigenómica y Nutrigenética* (2011)

El concepto clásico de RC se cuestiona y se relaciona con los efectos de la Restricción Proteica (RP). En diez de los once estudios que se han realizado con roedores se ha encontrado que la RP aumenta la longevidad máxima (alrededor de un 20%) aunque es más baja que la RC (alrededor del 40%), esto sugiere que la restricción proteica puede suponer casi un 50% del efecto de aumento de la longevidad en la RC. También se han llevado a cabo estudios con restricción de

lípidos y carbohidratos sin RC pero no se han observado descensos destacables. Recientemente se ha observado que 6-7 semanas de RP del 40% sin una restricción significativa de calorías disminuye la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), disminuye el porcentaje de fuga de radicales libres de la cadena respiratoria y disminuye la lesión oxidativa del ADN mitocondrial, así como de lípidos y proteínas en mitocondrias de hígado de rata, análogamente a como acontece en mitocondrias de hígado de rata después de 6-7 semanas de 40% de RC (Tabla 1). De forma llamativa la magnitud, el tipo de cambios, los mecanismos y lugares de acción de las disminuciones son similares tanto en RP como en RC. Estos resultados sugieren que la restricción calórica de la ingesta de proteínas puede ser responsable de la disminución en la producción de ROS y estrés oxidativo que tienen lugar durante la RC y, por consiguiente, de parte del aumento de la longevidad máxima que ocurre durante la RC. A su vez, se sabe que reduciendo progresivamente el nivel de proteínas de la dieta en ratones, del 24 al 12% y del 12% al 6%, disminuye la peroxidación lipídica en hígado, se reducen las actividades de enzimas lisosomales en cerebro, hígado e intestino y disminuye la acumulación de productos derivados de la oxidación de lípidos como la lipofuscina. Es importante tener presente que un 40% de restricción proteínas equivale, aproximadamente, a una restricción de calorías de tan sólo un 8%, asumiendo las recomendaciones nutricionales para una dieta equilibrada que señalan que las proteínas deben aportar el 12-15% del total de calorías necesarias.

	RC (40%)	RP (40%)
Producción mitocondrial de ROS	↓	↓
Porcentaje de fuga de radicales libres	↓	↓
Lesión oxidativa del ADN mitocondrial	↓	↓
Grado de insaturación de las membranas celulares	↓	↓
Longevidad máxima	↑	↑

Tabla 1. Resumen de los efectos de la restricción calórica (RC) y la restricción proteica (RP) sobre el estrés oxidativo y la longevidad máxima. *Fuente: de Lorenzo D., Nutrigenómica y Nutrigenética (2011)*

Dado que la RC y la RP tienen la capacidad de retardar el proceso de envejecimiento, sus efectos sobre la expresión génica puede afectar el estado fisiológico del organismo actuando sobre varios

genes. Conocemos que la expresión génica se altera con la edad por lo que una dieta con RC/RP puede llevar a disminuir patologías y aumentar la longevidad de los individuos.

Las poblaciones de países industrializados consumen niveles de proteínas del orden 3-4 veces superiores a los valores recomendados (0,75g/kg de peso corporal/día). Por tanto, existe la posibilidad de modificar la cantidad de proteína ingerida. El conocer que la RP puede disminuir las lesiones moleculares y aumentar la longevidad, permite a muchos autores afirmar que la aplicación de una dieta baja en proteína (40% RP) puede ser más fácil de poner en práctica que la RC.

La mayor parte de los estudios publicados hasta la fecha han sido realizados en levaduras y animales. Los estudios del efecto de la RC sobre el envejecimiento en seres humanos son limitados y difíciles de realizar, pero también se observan ciertas mejorías. A continuación describiré algunos de los estudios más importantes realizados hasta la fecha.

3. Estudios en levaduras y animales

3.1. Levaduras

Los experimentos con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, han proporcionado la primera prueba del efecto de la RC en la especie. El papel de la hormesis (respuesta al estrés moderado) en la vida útil de la levadura, se explica con el descubrimiento de las enzimas sirtuinas, en concreto con SIR2, un factor conservado de longevidad e implicado en la respuesta a RC. El nombre de SIR2 significa “regulador silencioso” porque la enzima cataliza la desacetilación de histonas, silenciando la cromatina al ser estructuralmente menos accesible, lo que reduce la expresión génica.

El investigador Lenny Guarente y su equipo demostraron que en levadura el aumento de la esperanza de vida como consecuencia de una dieta con RC necesita la activación del gen Sir2 y de la coenzima NAD⁺. Además, varias sirtuinas actúan en reacciones implicadas en el aplazamiento de las enfermedades relacionadas con la edad, ya sea por la disminución de las reacciones mediadas por ROS, o mediante el aumento de los mecanismos de defensa a nivel del genoma (5,6).

3.2. Ratas

Las ratas son los segundos animales más populares para estudiar los efectos de la RC en la transcripción de genes, después de los ratones. Estudios en el músculo gemelo, pituitaria anterior

y epitelio del epidídimo de las ratas mostraron los siguientes resultados.

El estudio de Jervis y Robaire mostró que la RC atenúa o revierte cambios relacionados con la edad en el epidídimo, especialmente asociados a genes que participan en la síntesis de proteínas y la función mitocondrial (7). Así bien, el estudio de Chen demostró que a largo plazo la RC previene 8 de 28 alteraciones relacionadas con la edad en la pituitaria anterior. Además, se observó que los cambios relacionados con la edad en la expresión de genes asociados con la respuesta inmune, el estrés oxidativo y el metabolismo energético se ven contrarrestadas por la RC (8,9).

Otros estudios han demostrado que la proteína sirtuina SIRT1 de mamíferos es inducida en los tejidos de las ratas sometidas a RC. A nivel celular, SIRT1 promueve la resistencia de las células a la muerte inducida por el estrés mediante la atenuación de p53 y estimulando el sistema anti-apoptótico Ku70-Bax (10,11,12). SIRT1 también estimula cambios metabólicos en células compatibles con RC, incluyendo el aumento de la oxidación de ácidos grasos en los adipocitos, y aumenta la producción de glucosa en hepatocitos a través del coactivador del receptor activado gamma de proliferador de peroxisomas 1-alfa (PGC-1alfa) y del receptor activado de proliferador de peroxisomas alfa (PPAR-alfa) (13,14). Esto significaría que el efecto de la RC es provocar una respuesta activa y funcional al estrés, no sólo para alterar el metabolismo de forma pasiva; siendo la RC el resultado de uno de los métodos más antiguos para promover la supervivencia del organismo durante periodos de adversidad.

3.3. Ratones

Los ratones son los animales más populares para el análisis de la expresión de genes alterados por RC, con numerosos estudios publicados hasta la fecha. Se han estudiado una gran variedad de tejidos, incluyendo hígado, músculo gastrocnemio, corazón, pulmón, etc. Observándose mejor conservación de los órganos en los animales sometidos a RC en comparación con los animales sometidos a alimentación *ad libitum*. En muchos estudios se prefiere la elección del músculo esquelético ya que está compuesto principalmente por células consumidoras de oxígeno de larga duración y postmitóticas, características compartidas con otros objetivos críticos del envejecimiento como el corazón y el cerebro. La pérdida de masa muscular y la disfunción motora asociada es la principal causa de fragilidad y discapacidad en la personas mayores. A nivel histológico, el envejecimiento del músculo gastrocnemio en ratones se caracteriza por la atrofia de la célula muscular, variaciones en el tamaño de las fibras musculares, la presencia de depósitos de lipofucsina, la deposición de colágeno, y anomalías mitocondriales. Una RC temprana (aprox. 2 meses de vida) tuvo como consecuencias incremento en la síntesis de

proteínas, aumento del metabolismo energético (aumento de la regulación de gluconeogénesis y la derivación a pentosas fosfato), aumento de la biosíntesis y disminución de las macromoléculas dañadas. En contraste, los ratones control mostraron en su vejez un aumento de la respuesta al estrés inducido por daños en el ADN, estrés oxidativo y respuesta de choque térmico, además de una disminución del metabolismo energético (reducción de glucólisis y disfunción mitocondrial) y aumento del daño neuronal. Lo que sugiere que una RC temprana puede mejorar y disminuir los riesgos asociados a la edad. (15, 16, 17)

Recientemente, en un estudio sobre terapia génica con telomerasa se observó un incremento en la longevidad sin incrementar el cáncer en ratones adultos y viejos. Se consiguió aumentar la vida media de ratones viejos y adultos a través de la sobreexpresión de la subunidad catalítica de la telomerasa de ratón (mTERT), sin incrementar el riesgo de cáncer. El aumento de la expresión de la telomerasa permitió el alargamiento en la longitud de los telómeros (secuencias repetitivas de ADN dispuestas en los extremos de los cromosomas), ejerciendo un efecto protector sobre el ADN y el material genético. La RC en ratones ha demostrado la extensión de la vida de manera saludable (18).

3.4. *Monos Rhesus*

La longevidad de los monos Rhesus (*Macaca Mulatta*) o esperanza de vida se puede estimar en 20 años, alcanzando posiblemente 40 o más. Existen dos estudios de RC en monos Rhesus realizados en Estados Unidos que muestran efectos positivos de la RC sobre el envejecimiento, uno de la Universidad de Wisconsin en Madison, el otro en el Instituto Nacional de Envejecimiento, del Centro de Investigación en Gerontología, cuyo resultado aún no se conoce y debe dentro de 15-20 años determinar si la RC aumenta la máxima longevidad en primates no humanos. Hasta la fecha, estos estudios han demostrado que la RC protege contra el desarrollo de resistencia a insulina y diabetes, mejora factores de riesgo para la arteriosclerosis, disminuye el nivel de triyodotironina, la tasa metabólica, la temperatura corporal, el daño oxidativo y los niveles de IGF-1 e IL-6, y retrasa la senescencia del sistema inmune (Figura 2) (19-21). Otros estudios con monos Rhesus, también reflejan resultados similares donde al analizar el perfil transcripcional del músculo esquelético de estos primates sometidos a RC (22), se observa un incremento en la expresión de genes estructurales y una reducción en la expresión de genes implicados en la bioenergética mitocondrial; sugiriendo que los monos Rhesus con RC pueden estar en un estado hipermetabólico.

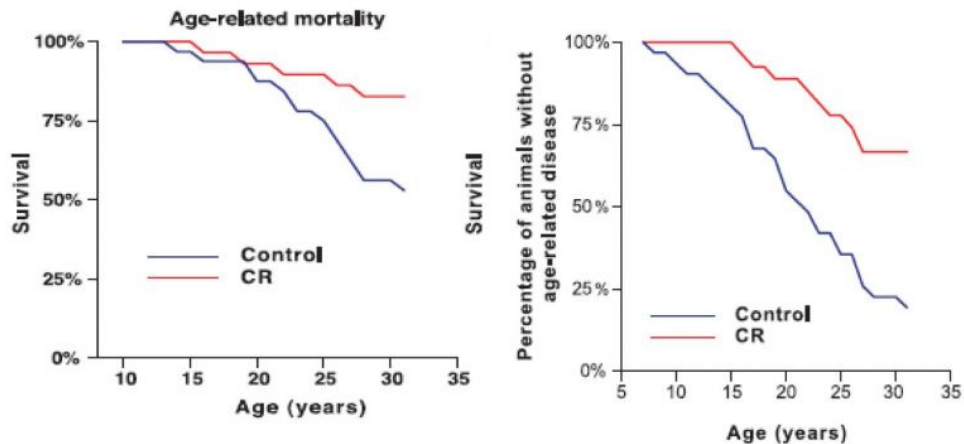


Figura 2. Estudio del efecto de la restricción calórica en mono Rhesus.. A. Mortalidad relacionada con la edad, como se puede observar, para una misma edad, el número de especímenes vivos es siempre significativamente más elevado en el grupo sometido a restricción calórica. B. Porcentaje de animales sin enfermedades asociadas con la edad, para una misma edad, el número de individuos sin enfermedades es significativamente superior en el grupo sometido a restricción calórica. *Fuente: Colman RJ., Science (2009)*

Por otra parte, no todos los estudios con mono Rhesus sometidos a RC han dado lugar a resultados positivos (Figura 3). George Roth y colaboradores, también del Instituto Nacional de Envejecimiento (EE.UU.), iniciaron un experimento en primates, por lo que han pasado varios años para que el primer informe de seguimiento a largo plazo fuera publicado recientemente, este estudio sugiere fuertemente que la RC no aumenta significativamente la esperanza de vida de estos primates. Estos monos recibieron con su comida estándar algunos ingredientes (flavonoides y otros fitoquímicos, minerales ultratraza, etc.) que han podido influir en la esperanza de vida, según lo declarado por los propios investigadores. Por lo tanto, sus resultados tienen que ser manejados con cuidado.

Otro hallazgo importante de este estudio es la demostración de que los indicadores de la condición metabólica mejoraron significativamente por la RC, sin aumento de la longevidad. Estas mejoras fueron encontradas por Walford también en sus experimentos de la Biosfera (23). Las mejoras de control de la glucemia, los niveles de lípidos en suero y otros se equiparan en la actualidad a los indicadores de aumento de la longevidad. Uno de los resultados importantes reportados por el equipo de Roth es poner en duda tales extrapolaciones. El aumento de los indicadores de salud no necesariamente indican una mayor longevidad.

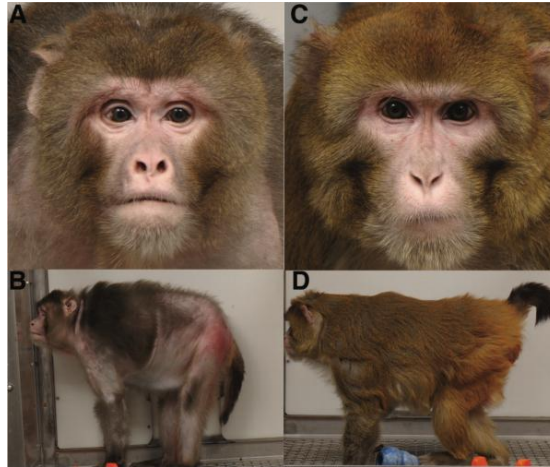


Figura 3. Estudio del efecto de la restricción calórica en monos Rhesus. Apariencia de animales viejos o no sometidos a restricción calórica: A y B animal de 27,6 años de edad (esperanza de vida). C y D animal de la misma edad sometido a una restricción calórica del 30%. Fuente: Colman RJ., *Science* (2009)

4. Estudios en seres humanos

Los estudios de restricción calórica (RC) en humanos, aunque limitados, son muy valiosos, pues se han conseguido efectos saludables en diversos aspectos, como por ejemplo, mejoría de la función cardíaca y reducción de los factores de riesgo de aterosclerosis. Existen evidencias que afirman que la RC disminuye la producción de ROS mitocondrial y por consiguiente las lesiones oxidativas de los diferentes componentes celulares (ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas). Estas investigaciones aplican un 40% de RC y muestran a largo plazo una disminución significativa de la tasa de generación de ROS y la fuga de radicales libres de la mitocondria. Clasificar los factores que causan la disminución de la producción de ROS y el estrés oxidativo y el incremento de la longevidad media y máxima durante el proceso de RC es complicado pero puede llevar a desvelar los mecanismos fundamentales que influyen en el proceso de envejecimiento. La RC es una intervención difícil de aplicar en seres humanos debido a múltiples factores, desde riesgo de malnutrición hasta la extrema dificultad de modificar hábitos nutricionales en cuanto a cantidad de ingesta.

Un ejemplo de RC en seres humanos es el caso de los centenarios de Okinawa. La RC ha sido y es un hecho importante en la vida para muchas poblaciones humanas a lo largo de la historia, y no

es de extrañar que todavía lo sea, sobretudo entre los pobres en los países del tercer mundo. No obstante, estos experimentos naturales por lo general no son fuente fiable de información ya que la mayoría de las dietas son muy bajas en calorías e incluso deficitarias en nutrientes esenciales, acompañadas de una alta prevalencia de enfermedades infecciosas agudas y crónicas. Una excepción, es el caso de la vieja generación de okinawenses que, a causa de la pobreza, su ingesta calórica fue severamente restringida. A pesar de todo, las medidas de salud pública y la calidad de la dieta en Okinawa eran suficientes para evitar deficiencias nutricionales y enfermedades infecciosas. Es cautivante la relación de los posibles efectos de la RC en la longevidad de esta población. Hay más personas centenarias por cada 100000 personas en Okinawa que en otras partes del mundo, incluyendo los Estados Unidos y Europa Occidental. Todo esto, sitúa a los centenarios de Okinawa como un claro ejemplo de evidencia sobre cómo la RC puede retardar el envejecimiento (24).

El estudio llamado CALERIES (Comprehensive Assessment of Long-Term Effects of Reducing Calorie Intake) consiste en un programa de investigación que involucra a tres centros de investigación y uno de coordinación en Estados Unidos. La fase 1 de CALERIES consistió en tres estudios piloto para determinar si una investigación de los efectos a largo plazo de la RC en seres humanos que viven en libertad es factible, para la obtención de datos preliminares sobre las respuestas de adaptación a RC (Figura 4).

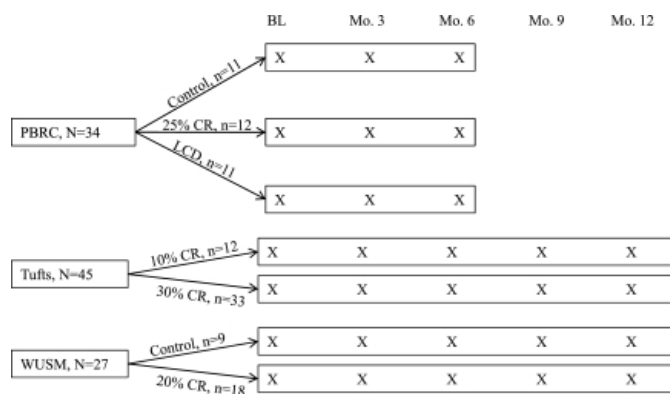


Figura 4. Diseño de los estudios CALERIES en Pennington Biomedical Research Center (PBRC), la Universidad de Tufts (Tufts), y la Universidad de Washington Escuela de Medicina (WUSM). La actividad se midió en los puntos temporales indicados con X. BL, línea de base; CR, restricción de calorías; LCD, dieta baja en calorías. Fuente: Martín CK., *Journal of Applied Physiology* (2011)

El primer estudio llevado a cabo por la Universidad de Tufts (Estudio A) consistió en RC de 10% y 30% durante 12 meses en mujeres y hombre sanos y con sobrepeso (IMC 25-29,9 kg/m²) entre 24 y 42 años de edad. El estudio del Centro de Investigación Biomédica de Pennington (Estudio B) consistió en 6 meses de RC del 25% en mujeres y hombres entre 25 y 50 años con sobrepeso sin enfermedad. La Universidad de Washington (Estudio C) analizó RC del 20% durante 12 meses en mujeres y hombres sanos con sobrepeso entre 50 y 60 años de edad. Como se muestra en la Tabla 2, los resultados de los estudios dieron lugar a una reducción significativa de peso corporal y masa grasa, y un leve descenso de masa magra. En el estudio A, los individuos sometidos a 30% de RC mostraron pérdida de peso y masa grasa mayor, que los individuos con una RC del 10% (25). En el estudio B de la fase 1 de CALERIES, a los 6 meses de RC se observó una disminución del 10% en el peso corporal, y una disminución significativa en la temperatura corporal, el gasto energético en 24hrs, los niveles de triyodotironina (T3), la masa corporal, la masa magra, el tejido adiposo visceral, el tejido adiposo subcutáneo, el tamaño de las células grasas, la grasa intrahepática y la insulina en ayunas, así como una mejora en la sensibilidad a la insulina (26, 27). En el estudio C de la fase 1 de CALERIES los resultados tras 12 meses de RC mostraron una disminución del 10,7% en el peso corporal con una disminución en el IMC de 27,2±0,6 a 24,4±0,6 kg/m². Además, disminuyeron significativamente la masa total de grasa corporal, la masa magra, la masa grasa visceral, la masa grasa abdominal subcutánea, la leptina, la insulina en ayunas, y las áreas de glucosa e insulina bajo la curva de tolerancia oral a la glucosa, mientras que el índice de sensibilidad a la insulina aumentó en respuesta a la RC (28-30). Los participantes de los estudios de la fase 1 de CALERIES inicialmente tenían un IMC en rango de sobrepeso moderado y como se observa al final del estudio su IMC es de peso normal. Esto demuestra que la RC es factible en seres humanos que viven en libertad, permitiendo una mejora en la salud y en la prevención del desarrollo de enfermedades relacionadas con el envejecimiento.

Tabla 2. Los valores basales y los cambios en el peso corporal, FM y FFM durante las intervenciones

	Estudio A			Estudio B		Estudio C	
	Control	25% CR	LCD	10% CR	30% CR	Control	20% CR
Peso, kg							
Línea de base	83.15 ± 2.08	81.14 ± 2.09	80.03 ± 2.26	84.66 ± 1.43	78.68 ± 0.94	81.72 ± 2.01	79.01 ± 1.10
Mes 3	-0.53 ± 0.63*	-5.57 ± 0.49 [†]	-11.29 ± 0.55 [†]	-4.44 ± 0.58	-5.35 ± 0.43	-0.96 ± 0.46*	-5.53 ± 0.48 [†]
Mes 6	-0.35 ± 0.75*	-8.07 ± 0.88 [†]	-10.67 ± 0.56 [†]	-5.39 ± 1.50	-7.43 ± 0.73	-2.69 ± 1.01*	-7.42 ± 1.07 [†]
Mes 9				-3.56 ± 2.30	-7.73 ± 0.71	-1.73 ± 0.68*	-7.76 ± 1.11 [†]
Mes 12				-3.48 ± 2.67	-6.58 ± 0.70	-1.09 ± 0.64*	-8.21 ± 1.10 [†]
FM, kg							
Línea de base	25.80 ± 0.91	24.93 ± 1.36	26.35 ± 1.37	30.89 ± 1.00	27.31 ± 0.58	26.99 ± 0.49	26.50 ± 0.63
Mes 3	-0.43 ± 0.35*	-3.60 ± 0.44 [†]	-7.29 ± 0.26 [†]	-4.34 ± 0.51	-4.45 ± 0.32	-0.98 ± 0.34*	-3.87 ± 0.35 [†]
Mes 6	-0.15 ± 0.67	-5.68 ± 0.74 [†]	-7.86 ± 0.46 [†]	-5.51 ± 1.29	-6.72 ± 0.64	-1.68 ± 0.74*	-5.53 ± 0.80 [†]
Mes 9				-3.69 ± 1.95	-6.83 ± 0.68	-0.89 ± 0.41*	-6.04 ± 0.81 [†]
Mes 12				-3.51 ± 2.30	-6.03 ± 0.62	-0.17 ± 0.49*	-6.30 ± 0.89 [†]
FFM, kg							
Línea de base	57.35 ± 2.26	56.21 ± 2.31	53.68 ± 2.41	53.77 ± 1.18	51.37 ± 0.95	54.73 ± 2.20	52.51 ± 1.29
Mes 3	-0.09 ± 0.39*	-1.97 ± 0.29 [†]	-4.00 ± 0.50 [†]	-0.11 ± 0.39	-0.91 ± 0.22	0.02 ± 0.58*	-1.66 ± 0.28 [†]
Mes 6	-0.20 ± 0.34*	-2.38 ± 0.42 [†]	-2.81 ± 0.46 [†]	0.12 ± 0.48	-0.71 ± 0.21	-1.01 ± 0.40*	-1.89 ± 0.38 [†]
Mes 9				0.13 ± 0.75	-0.91 ± 0.25	-0.84 ± 0.33*	-1.72 ± 0.41 [†]
Mes 12				0.03 ± 0.66	-0.55 ± 0.24	-0.93 ± 0.45*	-1.91 ± 0.35 [†]

Los valores son medias ± SE. RC, restricción calórica; FM, masa grasa; FFM, masa libre de grasa; LCD, dieta baja en calorías. Medias con diferentes símbolos (*,†) indican que las puntuaciones de cambio en ese punto de tiempo difieren significativamente ($P < 0.05$) del grupo control en el Estudio A y en el Estudio C. En el Estudio B no hubo diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

Fuente Martín CK., *Journal of Applied Physiology* (2011)

Datos obtenidos por la Sociedad para la Restricción Calórica (SRC)

Los miembros de la Sociedad para la Restricción Calórica (Calorie Restriction Society, CRS) restringen su ingesta diaria basándose en la evidencia de los experimentos llevados a cabo en animales de laboratorio y la evidencia de los estudios en seres humanos, apoyándose en que la RC los protegerá contra procesos patológicos y enlentecerá el proceso de envejecimiento. A su

vez, se llevó a cabo un estudio con los miembros de dicha sociedad para evaluar los factores de riesgo de aterosclerosis. En dicho estudio participaron dieciocho miembros de esta sociedad de edad media 50 ± 10 años y con un promedio de RC de 6 años, y se comparó con un grupo control de individuos sanos, de edades similares, y que ingerían dietas típicas americanas (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen de los datos obtenidos en los miembros de la Calorie Restriction Society. Fuente: *Holloszy JO., National Institute of Health (2007)*

	Dieta occidental	Dieta RC
Edad (años) (33)	52,3 ± 10	51,4 ± 12*
Hombres: Mujeres	29:4	29:4
Índice de Masa Corporal (kg/m ²) (33)	24,8 ± 3,2	19,6 ± 1,6*
Grasa Corporal Total (%) (33)	23,1 ± 7	8,4 ± 7*
Grasa torácico-abdominal (%) (33)	23,4 ± 9,7	4,6 ± 5,7*
Presión sistólica (mm Hg) (33)	130 ± 13	103 ± 12*
Presión diastólica (mm Hg) (33)	81 ± 9	63 ± 7*
Colesterol total (mg/dl-) (33)	202 ± 33	162 ± 34*
Colesterol-LDL (mg/dl) (33)	122 ± 30	86 ± 24*
Colesterol-H DL (mg/dl) (33)	52 ± 15	64 ± 18*
Razón Colesterol total:Colesterol-LDL	4,2 ± 1,2	2,5 ± 0,5*
Triglicéridos (mg/dl) (33)	143 ± 93	58 ± 18*
Glucosa (mg/dl) (33)	95 ± 9	84 ± 8*
Insulina (μU/ml) (33)	7,4 ± 6	1,5 ± 0,9*
TNFα (pg/ml) (28)	1,5 ± 0,9	0,7 ± 0,5*
Proteína C reactiva (mg/L) (31)	1,1 ± 1,2	0,2 ± 0,3*
TGFβ1 (ng/ml) (31)	22,1 ± 6,6	14,9 ± 3,1*
Triyodotironina (ng/dl) (28)	91 ± 13	74 ± 22*

Los valores corresponden a media ± 4 SD para el número de sujetos indicados entre paréntesis.
*, significativamente diferente con $p < 0,01$ para RC versus control.

5. Genes afectados por la restricción calórica

El efecto de la RC sobre la expresión génica varía de gen en gen pudiendo conducir al aumento, descenso o no efecto en los niveles de expresión génica. Para poder comprender los efectos del envejecimiento y la RC sobre la regulación génica se han realizado diferentes estudios, la mayor parte de ellos en animales, donde se comparan perfiles de transcripción en tejidos de animales jóvenes, adultos-viejos, y adultos-viejos sometidos a RC.

En estos estudios se han identificado muchas variantes genéticas que pueden estar relacionadas

con la RC en animales. Sin embargo, la mayoría de los autores coinciden en que la RC induce una reprogramación metabólica identificando dos factores de transcripción claves: NRF2 (factor nuclear eritroide 2) y PGC-1alfa (peroxisoma proliferador activado del receptor gamma coactivador 1alfa). La proteína NRF2, además de su capacidad de regular la expresión de genes antioxidantes se asocia a sistemas de señalización metabólica. La restricción calórica, activa la vía NRF2/elemento de respuesta antioxidante, induciendo sistemas de desintoxicación de especies reactivas de oxígeno, además ejerce efectos antiinflamatorios, por tanto, suprime la iniciación/progresión de la enfermedad vascular que acompaña al envejecimiento (31-33). Por su parte la proteína PGC-1alfa es un coactivador transcripcional relacionado con la regulación de genes implicados en el metabolismo mitocondrial, incluyendo genes codificados a nivel nuclear implicados en la cadena de transporte de electrones. Se ha observado que la RC aumenta los niveles de ARNm de PGC-1alfa en los tejidos. Todo esto nos lleva a interpretar que la RC induce a una reprogramación metabólica reduciendo el estrés oxidativo y la tasa de envejecimiento y por ello, aumentando la longevidad.

En mamíferos, las proteínas NRF (factores de transcripción relacionados con NF-E2, NRF1 y NRF2) inducen la expresión de enzimas de desintoxicación, tales como la sintetasa-glutamil cisteína (GCS) en el hígado y en el tracto digestivo en respuesta al estrés oxidativo y a los xenobióticos. El gen SKN-1 es el ortólogo de gusano y, al igual que las proteínas NRF, también presenta una doble función, durante el desarrollo temprano tiene un papel en el endodermo y en la especificación del destino celular mesendodermal, y más tarde en la edad adulta tiene un papel que implica la resistencia al daño oxidativo. El papel de estas proteínas en la gestión del estrés oxidativo en los animales podría ser un regulador clave de la respuesta a RC.

Los receptores nucleares (RN) que controlan la expresión de los genes son proteínas que pueden asociarse a diversos ligandos, como glucocorticoides, mineralocorticoides, hormonas sexuales, hormonas tiroideas, entre otras. Un RN típico contiene un dominio de intracción con el ADN (DBD), otro para interactuar con un ligando (LBD) y otros para interactuar con activadores funcionales de la transcripción (AF). Los RN se unen a zonas del ADN conocidas como elementos de respuesta (RE), a activadores y/o inhibidores y a ligandos específicos (34).

Los RN más comunes son los receptores activos por los profeliradores peroxisomales (PPARs). La Figura 5 esquematiza la estructura de un RN nuclear con sus respectivos dominios de interacción. Los PPARs han sido los RN más estudiados y se han realizado estudios comparativos de la funcionalidad de PPARs en varias especies (*Homo sapiens*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus* y *Saccharomyces cerevisiae*). En estudios de la modulación del gen PPAR por RC

(35) se ha observado una disminución en la transcripción de PPAR durante el envejecimiento. En estos estudios encontraron que los niveles de expresión de la actividad de unión de ARNm y ADN de los PPAR se redujeron en riñón senil y fueron restaurados con la ingesta de una dieta con RC. La acción antioxidante de la RC es responsable del mantenimiento de la actividad de la expresión génica de los PPAR. Así, la importancia fisiológica del efecto de la RC sobre el estatus de los PPAR en la regulación de factores de transcripción es su efecto supresor de la activación de NF- κ B (factor nuclear kappa B).

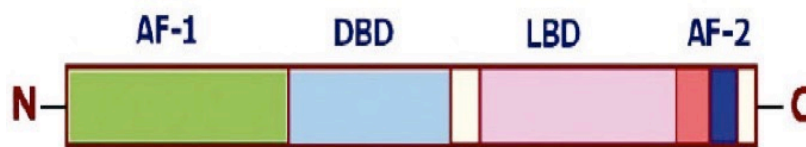


Figura 5. Estructura general de un receptor nuclear. DBD, dominio de interacción con ADN; LBD, dominio de unión de ligandos; AF-1 y AF-2, activadores funcionales de la transcripción. Fuentes: *Modificado de Alaynick WA., 2008*

Otro grupo importante de proteínas moduladas por dietas con RC es la familia de factores de transcripción FOXO (Forkhead box O), conservada evolutivamente y que está formada por FoxO1, FoxO3, FoxO4 y FoxO6 en mamíferos. La función de los factores FOXO es inducir la transcripción de genes reguladores del metabolismo, ciclo celular, muerte celular y la respuesta al estrés oxidativo (36).

Recientemente se ha demostrado el efecto de la RC sobre la activación de las proteínas sirtuinas, cuyo nombre proviene del gen de levadura Sir2 (silent mating type information regulation 2 homolog). Estos hallazgos han atraído la atención por su recién descubierta función epigenética como desacetilasa de histonas dependiente de NAD⁺ (nicotinamide adenine dinucleotide). Su activación como consecuencia de la ingesta de una dieta con RC podría revelar los mecanismos moleculares de su efecto protector contra el envejecimiento, información que ha sido buscada por mucho tiempo. La familia SIRT en mamíferos contiene 7 isoformas, y SIRT1 juega un papel clave en la homeostasis energética y la extensión de la vida en roedores sometidos a una dieta con RC (37, 38).

La RC aumenta la expresión de SIRT1 en hígado, tejido adiposo, cerebro y riñón (39). Sus diversas acciones se mostraron a través de su interacción con FoxO1, FoxO3, FoxO4, PGC-1 α ,

p53, receptor X en hígado (LXR) y NF- κ B, que también se relacionan con el proceso de envejecimiento y las dietas con RC. La desacetilación dependiente de SIRT1 promueve la captura nuclear del factor de transcripción FoxO1 y aumenta la expresión de genes cercanos (40, 41). La desacetilación de NF- κ B por SIRT1 provoca su inhibición lo que tiene como consecuencia el bloqueo de la producción de mediadores inflamatorios (42). Este papel recién descubierto de la RC como un potente activador de SIRT1, junto con los datos acumulados en muchos otros aspectos como su efecto antiinflamatorio al actuar sobre los factores de transcripción (NF- κ B, PPAR, FOXO), proporciona una base molecular externa para la eficacia extremadamente diversa de las dietas con RC, como un poderoso modificador epigenético con acción antienvjecimiento.

Los estudios en seres humanos sometidos a RC son difíciles de realizar por múltiples factores, desde riesgo de malnutrición hasta extrema dificultad para modificar hábitos nutricionales en cuanto a cantidad de ingesta. A continuación se destaca uno de los pocos estudios llevados a cabo.

En Corea del Sur se ha llevado a cabo un estudio en seres humanos para investigar la asociación de los polimorfismos de los genes FADS (desaturasas de ácidos grasos) con los cambios relacionados con la edad en los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs), en los fosfolípidos séricos y los marcadores del estrés oxidativo. Con la participación de 160 individuos no obesos y sanos con un IMC 18,5-30 kg/m², varones con edades comprendidas entre 35-59 años; todos eran sujetos sedentarios, no tenían antecedentes de enfermedades conocidas y completaron un cuestionario personal de salud y su historia dietética. Los criterios de exclusión fueron diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, problemas psiquiátricos y el uso de cualquier medicamento.

De estos individuos se preseleccionaron 8 genes FADS para polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) de los cuales fueron relevantes 4 SNPs (FEN1 rs174537G>T, FADS2 rs174575C>G, FADS2 rs2727270C>T, FADS3 rs1000778C>T) que fueron seleccionados para su posterior análisis.

El estudio tuvo una duración de 3 años. Entre los hombres inscritos (n=160), 38 se retiraron por motivos personales o mal cumplimiento, dejando 122 hombres a los 3 años. Al inicio del estudio, la ingesta alimentaria habitual de cada sujeto se evaluó mediante un cuestionario de frecuencia de alimentos semicuantitativo y el cuestionario de recuerdo de 24 horas. Los sujetos fueron alentados para mantener su peso corporal dentro de ± 2 kg, y se les dio información general tanto oral como escrita, sobre la elección de alimentos sanos y la realización de ejercicio, al inicio del estudio y en una visita posterior. Los sujetos fueron instruidos por dietistas capacitados y también

se les pidió llevar un registro de los alimentos durante 3 días (2 días de la semana y 1 día de fin de semana) en cada visita.

Después de 3 años, los sujetos mostraron un aumento de LDL-C, ox-LDL, GLA (ácido gamma linolénico) en fosfolípidos del suero y AA (ácido araquidónico); y una disminución en los niveles de HDL-C, IL-6 y ácido eicosadienoico en fosfolípidos en suero (20:02 ω6). No hubo diferencia significativa en la ingesta total de energía o la ingesta de macronutrientes entre el inicio y después de 3 años de seguimiento. La distribución de genotipos de los cuatro SNPs seleccionados se muestra en la siguiente tabla:

Gen	Genotipo 1	Genotipo 2	Genotipo 3
FEN1 rs174537G>T	41,0 % GG	47,5 % GT	11,5 % TT
FADS2 rs174575C>G	88,5 % CC	9,8 % CG	1,6 % GG
FADS2 rs2727270C>T	48,4 % CC	44,3 % TC	7,4 % TT
FADS3 rs1000778C>T	49,2 % CC	38,5 % CT	12,3 % TT

Los principales alelos fueron el gen FEN1, C en la primera posición del gen FADS2, C en la segunda posición del gen FADS2, y C en el gen FADS3. El resto de los polimorfismos no dieron resultados relevantes.

Al inicio del estudio, los hombres con el alelo rs174537T en el gen FEN1 mostraron una menor proporción de ácido araquidónico (AA), disminución de la relación de AA a LA (ácido linoléico) en los fosfolípidos del suero y aumento en los niveles de IL-6 en comparación con rs174537GG. A los 3 años de seguimiento, los hombres con el alelo rs174537T mostraron niveles menores de AA, menor actividad de $\Delta 5$ -desaturasa, y niveles menores de 8-epi-PGF2alfa urinario en comparación con aquellos con rs174537GG. Además, los hombres con el alelo rs174537T mostraron una reducción significativa en los niveles de IL-6 en comparación con el inicio del estudio y un aumento significativo de ácido γ -linolénico y ox-LDL; El cambio en los niveles séricos de TNF- α tienden a ser diferente entre los alelos rs174537GG y rs174537T. Los hombres con el polimorfismo rs174537GG habían aumentado significativamente sus niveles de AA, ácido AA/dihomo- γ -linolénico (DGLA), docosapentaenoico (DPA), lipoproteínas de baja densidad (LDL), y de ox-LDL, pero disminuyó el eicosatrienoico.

En conclusión, los polimorfismos de los genes FADs podrían afectar los cambios asociados con

la edad en los PUFA de cadena larga de los fosfolípidos del suero, la actividad $\Delta 5$ -desaturasa, y el estrés oxidativo en los hombres no obesos de mediana edad. En particular, el alelo rs174537T no mostró aumento asociado a la edad en los niveles de AA y la actividad $\Delta 5$ desaturasa, lo que sí fue observado en el genotipo rs174537GG.

6. Miméticos de la restricción calórica

En la actualidad se sabe que el consumo regular de una dieta con RC es difícil, sobretodo en seres humanos. Por ello, no es de extrañar que se busquen otras alternativas con efectos similares a la RC. Un potencial mimético de RC es el resveratrol, que puede tener efectos beneficiosos contra numerosas enfermedades tales como la diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y cáncer en modelos de cultivo de tejidos y animales. Otros posibles miméticos son los oligoelementos (Se, Zn, Mn) que actúan sobre procesos conocidos, como la función inmune (Se, Zn), el estrés oxidativo (Zn, Se, Mn), la sensibilidad a la insulina (Se, Zn) y la función cognitiva (Se). El ayuno intermitente se propone también como opción sustitutiva a la RC.

6.1. Resveratrol

El resveratrol (3,4',5-trihidroxi-trans-estilbeno $C_{14}H_{12}O_3$) es un compuesto que se encuentra en algunas plantas, frutas como las moras y semillas, pero sobretodo en la piel de las uvas, y en determinados productos de la uva como el vino tinto. El consumo de resveratrol ha sido relacionado con un menor riesgo de enfermedades de las arterias coronarias y cáncer (Figura 6).

El aumento de la expresión del gen Sirt1, el ortólogo de mamífero más cercano al gen Sir2 de levaduras, que codifica para la proteína sirtuina SIR2 (desacetilasa de histonas que utiliza NAD^+ como cofactor), no aumenta la vida útil pero mejora el envejecimiento saludable en ratones (43). Tras este dato se han identificando moléculas pequeñas activadoras del gen Sirt1, encontrándose el resveratrol como uno de los activadores más potentes de Sirt1 (44). En *Nothobranchius furzei*, un pez de vida corta, el resveratrol prolonga la vida útil y retrasa el deterioro cognitivo (45) En ratones, se ha observado que la administración a largo plazo del resveratrol induce patrones de expresión génica que se asemejan a las inducidas por RC y al retraso del deterioro relacionado con el envejecimiento, pero no se extiende la vida útil cuando los ratones son alimentados con una dieta estándar (46,47). El resveratrol no imita todos los aspectos de la RC, tales como la reducción de la frecuencia cardíaca y la temperatura corporal (48). De hecho, el resveratrol aumenta la tasa metabólica y la temperatura corporal en ratones alimentados con una dieta alta en grasas (49, 50).

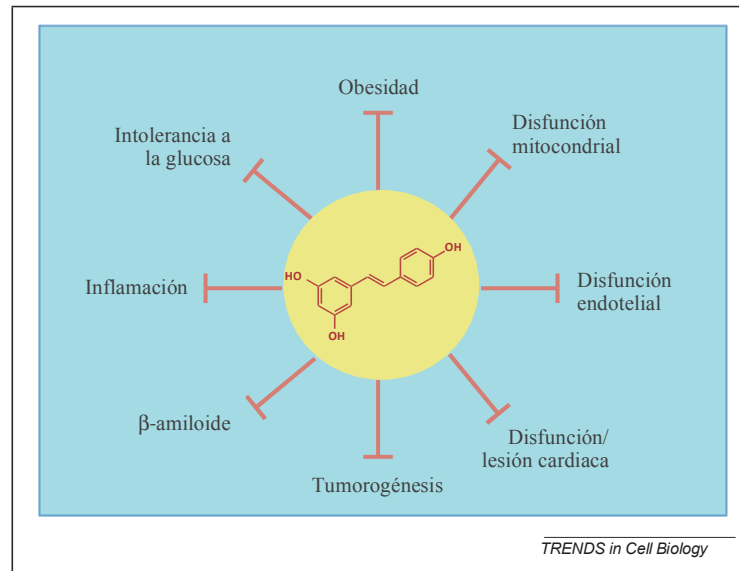


Figura 6. El resveratrol protege contra una amplia gama de enfermedades relacionadas con el envejecimiento. El resveratrol bloquea los procesos patológicos que contribuyen a las enfermedades relacionadas con el envejecimiento tales como la diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, y enfermedades neurodegenerativas, incluidas las enfermedades de Alzheimer. *Fuente Chung JH., Cell (2012)*

El resveratrol induce la expresión de genes importantes como PGC-1alfa, un regulador maestro de la biogénesis mitocondrial, lo que lleva a un incremento en el contenido mitocondrial y la función, así como al aumento de la resistencia física. Los numerosos ensayos clínicos con grupos de sujetos distintos (obesos, sanos, diabéticos tipo 2 o adultos mayores con intolerancia a la glucosa) y dosis diferentes de resveratrol (150 mg a 2 g por día), sugiere que el resveratrol puede mejorar la sensibilidad a la insulina y tiene aspectos mímicos de RC (48,51).

Un mediador clave de los efectos metabólicos del resveratrol es la AMP quinasa (AMPK), que se ve activada tras la inhibición de las fosfodiesterasas (PDEs) por la acción del resveratrol (50). Se ha demostrado que la activación de la AMPK reduce la acumulación de grasa y aumenta la tolerancia a la glucosa, la sensibilidad a la insulina, la biogénesis mitocondrial, y la resistencia física (52). Además, la AMPK es fundamental para la capacidad del resveratrol de aumentar la vasodilatación, permitiendo una mejora en la función cardíaca en ratas, reduciendo el tamaño del infarto junto con la disminución de la incidencia de arritmias ventriculares (53).

El resveratrol puede ser una estrategia terapéutica eficaz, no sólo para la diabetes tipo 2, sino también para enfermedades relacionadas con el envejecimiento.

6.2. *Oligoelementos*

Los oligoelementos (Se, Zn, Mn) además de actuar en la función inmune, el estrés oxidativo, la sensibilidad a insulina y la función cognitiva, también participan en el proceso de envejecimiento, modulando el daño oxidativo y la capacidad de reparación del ADN.

Así bien, los oligoelementos se reducen con la edad avanzada y, en un periodo largo de tiempo el consumo insuficiente de oligoelementos puede aumentar el riesgo de enfermedades relacionadas con la edad (Figura 7).

Los oligoelementos tienen la capacidad de reducir el daño oxidativo y de mejorar la reparación basándose en su actuación como cofactores esenciales para las enzimas antioxidantes tales como superóxido dismutasa (Cu, Zn, Mn), catalasa (Cu, Fe), y los diferentes tipos de glutatión peroxidasas (Se). Estas enzimas son cruciales para limitar la oxidación de lípidos, ácidos nucleicos o proteínas que se producen en las enfermedades crónicas (como el cáncer y los trastornos cardiovasculares) y en el envejecimiento.

Se sabe que el zinc (Zn) está activo en más de 300 proteínas y en más de 100 proteínas de unión a ADN, incluyendo la proteína supresora de tumores p53. El Zn unido a su factor actúa como un regulador clave del crecimiento celular y la supervivencia en diversas formas de estrés celular. p53 se encuentra mutado en la mitad de los tumores de seres humanos y su actividad está estrechamente regulada por metales y mecanismos redox. La interrupción de Zn vinculante de la estructura de p53, por ejemplo, por metales tóxicos como el cadmio, altera su conformación e inactiva su capacidad de unión al ADN, resultando en la pérdida de la capacidad del supresor de tumores para responder al daño del ADN (54-56).

Al considerar la influencia del selenio (Se) en el envejecimiento y enfermedades relacionadas con la edad, se tiene en cuenta las funciones biológicas de este oligoelemento, ejercidas por las selenoproteínas. En los seres humanos, se han identificado 25 genes que codifican para selenoproteínas, entre ellas varias glutatión peroxidasas (GPx), proteínas transportadoras de selenoproteína P (SEPP), reductasas de tiorredoxina y deiodinasas yodotironina. El Se tiene el potencial de influir en la prevalencia de enfermedades crónicas, su distribución geográfica en el suelo es altamente variable y la disponibilidad de Se en las poblaciones difiere mucho entre países. Los estudios reflejan que un aumento de la mortalidad y la prevalencia de las enfermedades crónicas está en correlación con un bajo consumo de Se, y además se sabe que con el aumento de la edad son mayores los requerimientos, y la insuficiencia de Se es común en la población de edad avanzada.

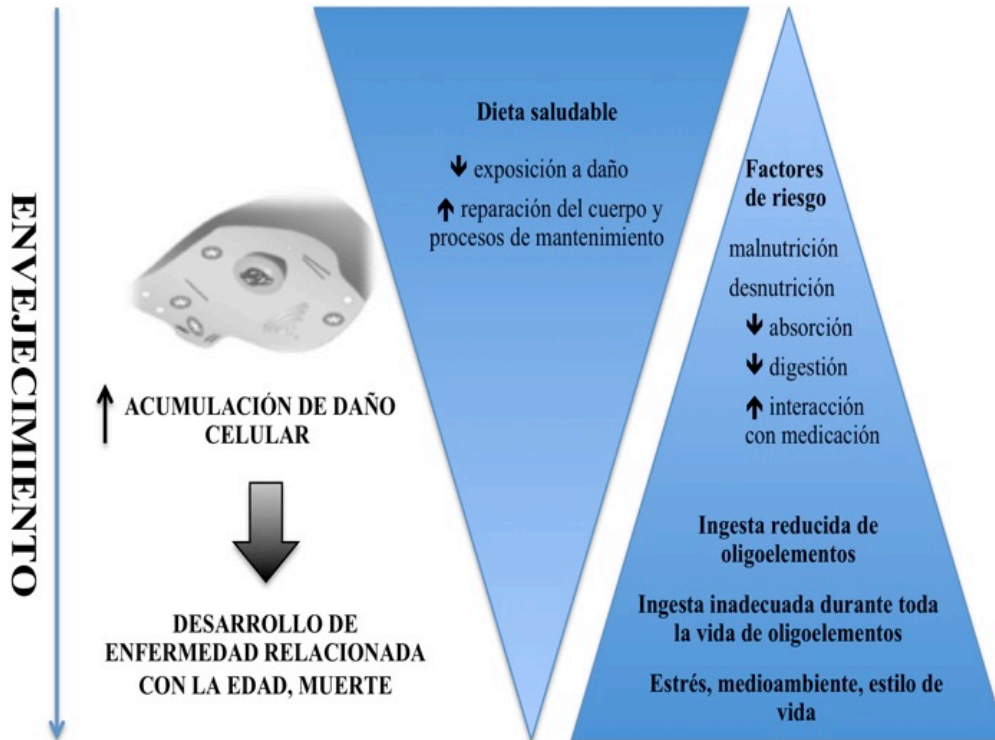


Figura 7. Efectos de oligoelementos en el proceso de envejecimiento. El proceso de envejecimiento corresponde a la acumulación de daño celular en respuesta al estrés, estilo de vida y factores ambientales en el tiempo y en última instancia conducir a la enfermedad relacionada con la edad y la muerte. Los oligoelementos, como parte de una dieta saludable, tiene el potencial de disminuir la tasa de envejecimiento biológico mediante la limitación de los daños y el aumento de la capacidad de reparación. Por otro lado, la ingesta inadecuada de oligoelementos durante varias décadas se ha demostrado que contribuyen a la acumulación de daño y el desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad. Además, en las personas de edad avanzada, el riesgo de factores nutricionales aumenta y contrarresta la influencia del efecto protector de los oligoelementos. El peso de estos diferentes factores con el tiempo se esquematiza por triángulos.
Fuente: Méplan C., Journal of Trace Elements in Medicina and Biology (2011)

El estudio de Salud de Médicos (PHS) incluyó 1286 casos y 1267 controles de la población de los EE.UU., con el objetivo de observar los resultados en el riesgo de cáncer de próstata. Se encontró asociación entre los niveles de Se en el prediagnóstico con el riesgo de cáncer de próstata y la progresión fue significativamente modificada por una variación genética en el gen de la selenoproteína de 15 kDa (SEP15), en el polimorfismo rs5845 (G1125A, región 3'UTR) los portadores del alelo G con un alta concentración de Se tienen un riesgo significativamente menor de mortalidad por cáncer de próstata. También se observó en un estudio con 248 casos de cáncer de próstata y 492 controles la existencia de una asociación significativa entre la concentración de Se en suero y el riesgo de cáncer de próstata modulada por el polimorfismo rs1050450 (C594T, Pro198Leu) en el gen de la glutatión peroxidasa-1 (GPX1), y una asociación significativa entre el

polimorfismo rs7579 (G25191A, región 3'UTR) en el gen SEPP1 (selenoproteína P plasma 1) y el riesgo de cáncer de próstata (57).

La relación entre oligoelementos, envejecimiento y enfermedades crónicas es compleja, es necesario estudiar y conocer más los biomarcadores de los oligoelementos para entender su influencia en las vías metabólicas y su relación causa/efecto con las enfermedades crónicas para que sea más factible aumentar la esperanza de vida.

6.3. *Ayuno intermitente*

El ayuno intermitente consiste en una técnica de ayuno, alternando períodos en los que se come de forma habitual y períodos en los que la ingesta calórica es prácticamente nula o restringida.

La evidencia de los efectos beneficiosos del ayuno intermitente sobre la longevidad apareció por primera vez hace varias décadas (58). Muchos estudios sugieren que períodos de ayuno y regímenes de ayuno intermitente pueden desencadenar procesos biológicos similares a la RC (un aumento de la autofagia y de la eficiencia respiratoria mitocondrial), dando lugar a un aumento de la circulación, la protección contra enfermedades cardiovasculares, la modulación de la especies reactivas de oxígeno y citoquinas inflamatorias, también se han demostrado efectos antimutagénicos, antibacterianos y anticancerígenos (59).

Esto abre una puerta a la posibilidad de extender la vida y obtener similares beneficios sin tener que someterse a una dieta con RC por un periodo de tiempo indefinido.

7. **Conclusión**

La restricción calórica ha demostrado tener efectos beneficiosos en el proceso de envejecimiento en las diferentes especies, desde organismos invertebrados hasta vertebrados, incluyendo los seres humanos. Sin embargo los mecanismos que subyacen a esta intervención para generar estos efectos positivos no están claramente identificados. Por consiguiente, muchos investigadores buscan activamente compuestos o sustancias que imiten la eficiencia de la RC para lograr la extensión de una vida sana. Además de los efectos anti-envejecimiento de la RC, se ha demostrado su importancia en la prevención de muchas enfermedades como cáncer, diabetes, obesidad, etc.

Aunque se ha observado que la RC tiene efectos sobre la expresión de determinados genes en el periodo de vida de las distintas especies, demostrar su efecto sobre la longevidad en el ser humano requiere mayor tiempo y un arduo trabajo para poder llegar a describirlo.

VII. CAPÍTULO 3. EPIGENÉTICA Y ENVEJECIMIENTO

1. Introducción
 2. Epigenética y envejecimiento
 3. Epigenética y nutrientes
 4. Conclusión
-

1. Introducción

La palabra epigenética fue acuñada por Conrad Waddington en 1942, resultado de la unión de las palabras epigénesis y genética, refiriéndose a la interacción de genes y ambiente para producir un determinado fenotipo (60). La epigénesis era una teoría aristotélica del desarrollo, que postulaba que los órganos de un embrión se formaban de la nada, por medio de inducción por parte del ambiente. Y aunque en aquella época se desconocía la estructura física de los genes, la palabra genética se usó desde 1905, cuando fue propuesta por William Bateson para denominar el estudio de la variación biológica y su herencia. La epigenética define todos los cambios meióticos y mitóticos heredables en la expresión de genes que no son el resultado de cambios en la secuencia de ADN (61). Los mecanismos epigenéticos han sido identificados como principales contribuyentes a la longevidad relacionada con la nutrición y el control del envejecimiento. Dos códigos epigenéticos primarios, la metilación del ADN y la modificación de las histonas, influyen dinámicamente en la estructura de la cromatina, lo que da lugar a cambios en la expresión de genes relevantes.

2. Epigenética y envejecimiento

Los cambios epigenéticos se han convertido en un mecanismo molecular que une la restricción calórica (RC) con su potencial para mejorar la función de las células y la salud durante toda la vida, lo que lleva a retrasar procesos de envejecimiento y extender la longevidad.

La evidencia reciente sugiere que los cambios en el estado de la metilación del ADN en loci de genes específicos pueden desempeñar un papel esencial en el aplazamiento del envejecimiento y en la longevidad dependientes de RC. Es interesante el descubrimiento de la Sirtuina 1

(desacetilasa de histonas dependiente de NAD^+), cuya actividad se ha ligado a la del control de la vida útil en respuesta a RC (62-64).

2.1. La metilación del ADN durante el proceso de envejecimiento

La metilación del ADN es una importante modificación epigenética, proporcionando un componente estable y heredable. Este proceso se produce principalmente en los residuos de citosina de los dinucleótidos CpG, que se agrupan con frecuencia en las islas CpG en los sitios de regulación de las regiones promotoras de los genes.

En general, la cantidad de metilación del ADN en una región de control de genes se correlaciona con la activación de estos (65,66). Los grupos metilo en los dinucleótidos CpG pueden atraer múltiples complejos de proteínas que participan en la transcripción, incluyendo factores de transcripción sensibles a metilación y proteínas de unión a grupos metilo, que se asocian a menudo con el silenciamiento de los genes (67). Así bien, la metilación del ADN tiene un rol importante en la regulación de la expresión génica, el mantenimiento de la integridad del ADN y la estabilidad en muchos procesos biológicos, como son la impronta genómica, el desarrollo normal, la proliferación celular y el envejecimiento (68).

Los patrones de metilación del ADN están mediados por tres metiltransferasas independientes de ADN (DMTs): DNMT1, DNMT3a y DNMT3b. La DNMT1 realiza una función de mantenimiento durante la división celular, mientras que DNMT3a y DNMT3b actúan como metiltransferasa de novo después de la replicación del ADN mediante la adición de un grupo metilo a la citosina de los dinucleótidos CpG que no hayan sido previamente metilados (69-71). Durante los procesos de envejecimiento, la capacidad para la homeostasis se va reduciendo progresivamente junto con la pérdida de la integridad de la cromatina debido a la expresión aberrante de los genes (72). Se sabe que la regulación de la metilación del ADN juega un papel fundamental en el proceso de envejecimiento. Con la edad, se producen cambios dramáticos en la distribución de la 5-metilcitosina (producto de la metilación del ADN) en todo el genoma, produciendo una disminución en la metilación del ADN (73,74)

Esta disminución con el envejecimiento lleva a muchas regiones promotoras de genes específicos a cambiar de no-metilado a metilado, lo que da lugar al silenciamiento de genes, que puede incluir promotores de varios tumores y/o genes relacionados con el envejecimiento, tales como RUNX3 y TIG1 (Tabla 4) (74,75). Esta información sugiere un papel esencial de los cambios en la metilación del ADN durante el envejecimiento para el desarrollo de enfermedades como el cáncer. La RC retrasa el proceso de envejecimiento a través de su capacidad para aumentar la

estabilidad genómica. Hay estudios que muestran que la RC prolongada en células humanas favorece la hipermetilación del ADN de un sitio de unión al factor de transcripción E2F-1 donde se encuentra el promotor del gen p16INK4a (Tabla 4 y Figura 8), que es un inhibidor de quinasa dependiente de ciclina ligado a la regulación de la senescencia celular. Este gen es un importante supresor de tumores que regula negativamente el ciclo celular e inhibe el crecimiento del tumor, y otros genes asociados al envejecimiento. Esta hipermetilación del ADN en el sitio de unión a E2F-1 bloquea el acceso de E2F-1 al promotor del gen p16INK4a, resultando en la regulación negativa de p16INK4a, lo que contribuye a la prolongación de la vida.

2.2. Modificación de las histonas durante el proceso de envejecimiento

Las modificaciones de las histonas se asocian tanto con la activación como con la represión de genes. La combinación de modificaciones dentro de las colas de las histonas cambia la configuración del nucleosoma y el estado de conmutación de la cromatina (estado compacto/cerrado o estado relajado/abierto) (76). Por ello, las modificaciones de las histonas determinan el nivel de apertura de la cromatina y a su vez el grado de actividad de los genes dentro de una región de ADN determinada.

2.2.1. Acetilación y desacetilación de las histonas

Los procesos de acetilación y desacetilación de histonas son catalizados por enzimas específicas denominadas histonas acetiltransferasas (HAT) e histonas desacetilasas (HDAC).

Además de su función de desacetilación, se cree que HDAC participa en la regulación de muchas funciones celulares y la expresión génica, a través de interacciones con cientos de diferentes factores de transcripción (77,78). La actividad de HDAC se incrementa durante la RC, lo que sugiere que la acetilación puede ser un mecanismo de protección contra el estrés nutricional y puede influir en los procesos del envejecimiento (Figura 8) (79). Las alteraciones en el enriquecimiento de la unión de HDAC1, como en las regiones promotoras de los genes p16INK4a y hTERT (transcriptasa reversa de la telomerasa), el último de los cuales actúa como un determinante clave de la actividad de la telomerasa estrechamente asociada con la regulación del envejecimiento, lo que tiene como consecuencia cambios beneficiosos importantes en la expresión de estos dos genes y contribuye a la longevidad en condiciones de RC.

2.2.2. Sirtuinas 1 y sus sustratos

Varias familias de desacetilasas de histonas (HDAC) han sido identificadas, incluyendo las de clase III HDACs dependientes de NAD⁺ como Sirtuinas 1. Las Sirtuinas 1 (SIRT1) en mamíferos, y sus ortólogos en otras especies (SIR2 en levadura), son importantes debido a su impacto

fundamental en la regulación y extensión de vida relacionada con la ingesta de una dieta con RC durante el envejecimiento (80-83). La actividad enzimática inusual de SIRT1, que depende en gran medida de la relación NAD^+/NADH , un indicador clave para el consumo de oxígeno, la cadena respiratoria y la tasa metabólica, sugiere que esta proteína está estrechamente conectada con el estado metabólico de las células. La activación de SIRT1 se ve con frecuencia en diferentes órganos de animales sometidos a una dieta con RC, mientras que la inactivación de SIRT1 puede conducir a la abolición de la prolongación de la vida, lo que sugiere un papel fundamental de SIRT1 en la regulación de la vida útil durante la RC.

La activación de SIRT1 aumenta la resistencia al estrés por la regulación negativa de factores de transcripción pro apoptóticos tales como p53 y Foxo (84-86); además, SIRT1 provoca una serie de respuestas endocrinas, incluyendo la inhibición de la adipogénesis y la secreción de insulina en las células beta pancreáticas a través de la regulación de genes clave asociados al metabolismo como el gen PGC-1alfa, lo que facilita la resistencia al estrés y la longevidad (87,88)

La RC es conocida por ejercer su efecto a través de la inhibición de la apoptosis, que es uno de los mecanismos reguladores más importantes. En este sentido, p53 es notable debido a su importante papel en la regulación de la muerte celular y la apoptosis. La expresión de p53 disminuye por la acción de SIRT1 en el proceso de desacetilación, pudiendo afectar la vida útil regulando negativamente la apoptosis celular y los procesos de senescencia replicativa.

Otra proteína importante que influye en la apoptosis es Foxo. La expresión de la proteína Foxo se reduce a través de la desacetilación directamente por la acción de SIRT1 en los residuos de lisina, reprimiendo de ese modo la apoptosis mediada por Foxo. Además, la proteína de reparación del ADN, Ku70, puede desacetilarse por SIRT1, permitiendo la inactivación del factor proapoptótico Bax, que resulta en la inhibición de la apoptosis (89,90)

La proteína SIRT1 también puede regular la expresión de genes que están implicados en las vías metabólicas. PGC-1alfa representa el mejor ejemplo de estas proteínas en estudios de dietas con RC. PGC-1alfa es un regulador clave de la gluconeogénesis y la oxidación de ácidos grasos.

Otro gen importante que puede ser regulado epigenéticamente por SIRT1 es p16INK4a. Los estudios actuales muestran que p16INK4a se acumula de manera significativa durante los procesos de envejecimiento, indicando su posible función como un biomarcador de envejecimiento.

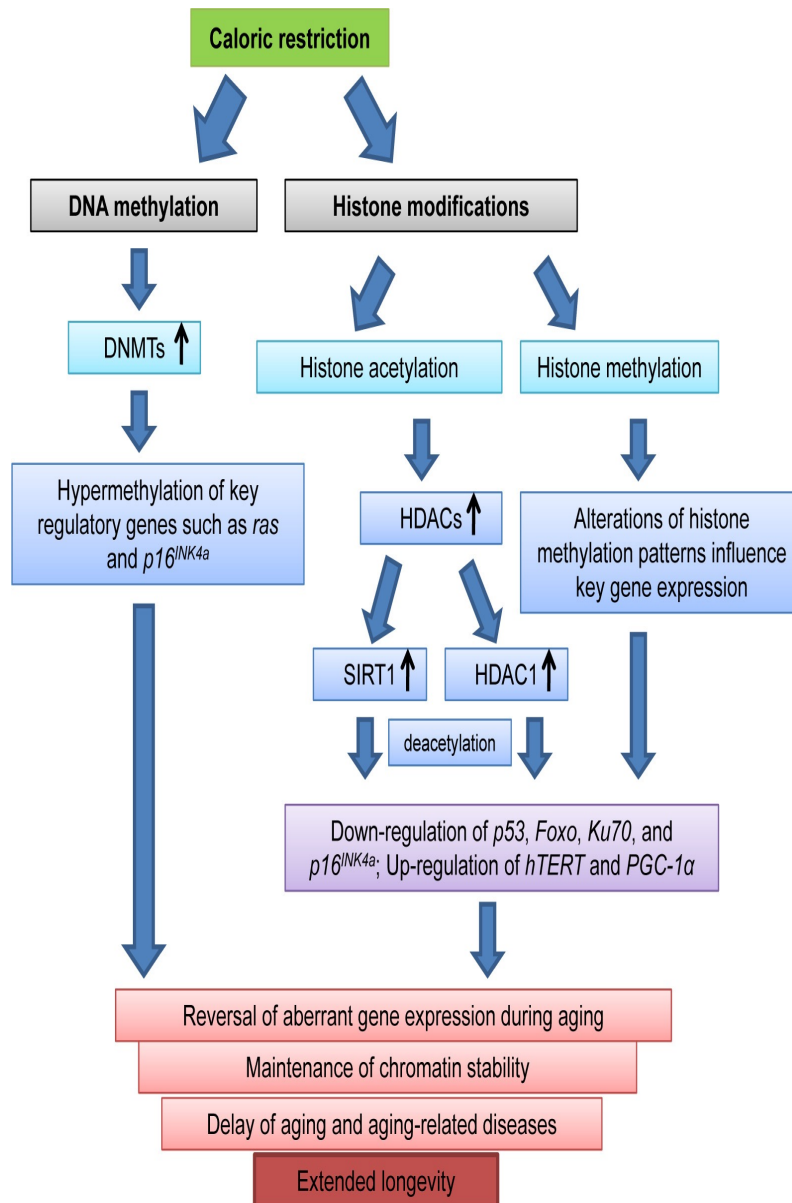


Figura 8. La restricción calórica regula vías epigenéticas. La RC influye en los procesos epigenéticos a través de dos mecanismos principales: la metilación del ADN y la modificación de las histonas. La regulación de la metilación del ADN durante la RC implica la activación de DNMT, lo que resulta en el silenciamiento de la expresión de genes diana tales como p16INK4a y Ras debido a la hipermetilación de estos genes. La remodelación de histonas inducida por RC incluye principalmente la acetilación de histonas y la metilación. Los efectos de desacetilación debido a la activación de SIRT1 y HDAC1 por la RC lleva a los cambios de expresión de genes clave como p53, Foxo, Ku70, PGC-1alfa y p16INK4a. La metilación de histonas también juega un papel en la regulación de la expresión de genes clave, incluyendo hTERT y p16INK4a. Como resultado, la regulación epigenética invierte activamente la expresión génica aberrante durante la RC, lo que contribuye a retrasar el envejecimiento asociado a RC y a la prolongación de la vida. Fuente: imagen obtenida de Li Y., BMC Medicine (2011)

Estudios recientes donde se utilizan células humanas muestran que SIRT1 activado por RC puede unirse directamente al promotor del gen p16INK4a y disminuir su expresión a través de un efecto de desacetilación, lo que contribuye a retrasar el proceso de envejecimiento y a la extensión de la vida útil (91).

2.2.3. Metilación de histonas

Además de la acetilación de histonas, la metilación de las histonas es otra modificación importante que regula la expresión de genes. En contraste con la acetilación de histonas, que siempre se asocia con el estado de la cromatina abierta y la posterior activación de genes, formas diferencialmente metiladas de histonas muestran patrones de asociación únicos con proteínas específicas que reconocen estos marcadores y por lo tanto conducen a silenciamiento génico o efectos de activación. Los residuos de lisina en las histonas pueden ser mono-, di- o tri metilados, y, o bien la activación o la represión es dependiente del residuo de lisina en particular que se ha modificado.

Las modificaciones de metilación de histonas, como la histona H3 di- o trimetilada en el residuo de lisina 3 o 4, también pueden regular los cambios de expresión de genes clave relacionados con el envejecimiento, incluyendo p16INK4a y hTERT, permitiendo así la extensión de la vida inducida por RC en células humanas (79, 92). El estado específico de metilación de las histonas también puede servir como un modulador de la transcripción mediante la interacción con diferentes factores de transcripción y regular los procesos de envejecimiento en condiciones de RC (Figura 8).

Los cambios epigenéticos son un mecanismo importante a tener en cuenta junto con la RC para retrasar el proceso de envejecimiento y las enfermedades asociadas a la edad garantizando una extensión de la longevidad.

Genes	Función de los genes durante el envejecimiento	Regulación epigenética	Efectos de RC
<i>p16INK4a</i>	Gen supresor de tumor; inhibe ciclo celular y se acumula durante el envejecimiento	Metilación de ADN, acetilación de histonas (mediada por SIRT1 y HDAC1) y metilación de histonas	Regulación negativa
<i>p53</i>	Gen supresor de tumor; induce la detención del ciclo celular, apoptosis y senescencia; un aumento de p53 promueve el envejecimiento	Acetilación de histonas (mediada por SIRT1)	Regulación negativa
<i>H-ras</i>	Oncogen; acelera el envejecimiento	Metilación de ADN	Regulación positiva
<i>RUNX3</i>	Factor de transcripción; juega un rol importante en el desarrollo y aumenta la metilación con el envejecimiento	Metilación de ADN	Regulación negativa
<i>Foxo</i>	Factor de transcripción (forkhead); controla varias funciones biológicas e involucra a SIRT1, relacionado con la longevidad	Acetilación de histonas (mediada por SIRT1)	Regulación negativa
<i>Ku70</i>	Un componente de la vía de recombinación no homóloga del ADN (NHEJ) para la reparación de roturas de doble cadena, regula apoptosis y reparación de ADN durante el envejecimiento	Acetilación de histonas (mediada por SIRT1)	Regulación positiva
<i>PGC-1alfa</i>	Regula la función mitocondrial y la homeostasis de la glucosa e interactúa con SIRT1 para regular el metabolismo de la glucosa durante la RC	Acetilación de histonas (mediada por SIRT1)	Regulación positiva
<i>hTERT</i>	Gen promotor de tumor; aumenta la expresión de hTERT, se correlaciona con la activación de la telomerasa y el retraso del envejecimiento	Acetilación de histonas (mediada por HDAC1) y metilación de histonas	Regulación positiva

Tabla 4. Genes seleccionados regulados por factores epigenéticos durante la restricción calórica. Fuente: Li Y., *BMC Medicine* (2011)

3. Epigenética y nutrientes

La epigenética, como nexo de unión entre la dieta y el envejecimiento, tiene un gran futuro a la hora de comprender cómo los factores ambientales influyen en la aparición de enfermedades complejas asociadas con la edad.

En estos momentos parece claro que los nutrientes pueden influir en procesos fisiológicos y patológicos a través de mecanismos epigenéticos, críticos para la expresión génica. La modulación de estos procesos, entre los cuales encontramos al envejecimiento, a través de la dieta puede ayudar a prevenir enfermedades y mantener la salud a lo largo de la vida de una manera mucho más fisiológica.

4. Conclusión

Actualmente, la epigenética se considera un importante mecanismo que une a la RC con su máximo potencial, dando como resultado un mejor funcionamiento celular, traduciéndose en la inhibición de enfermedades relacionadas con la edad y un retraso del proceso de envejecimiento. Como se mencionó en este capítulo, los mecanismos epigenéticos identificados que parecen ser especialmente prometedores, son la metilación del ADN y la modificación de las histonas. Estos dos códigos epigenéticos primarios, tienen una labor importante en la regulación de la estructura y la expresión de genes clave para provocar una respuesta global ante la ingesta de dietas con RC.

Las características fácilmente reversibles de las alteraciones epigenéticas ofrecen un gran potencial para el uso de intervenciones específicas encaminadas a revertir los cambios epigenéticos durante el envejecimiento, que puede tener un impacto significativo en retrasar el envejecimiento y prevenir enfermedades relacionadas con la edad.

VIII. CAPÍTULO 4. NUTRIGENÓMICA Y ENVEJECIMIENTO

1. Introducción
 2. La nueva ciencia de la nutrigenómica
 3. Nutrigenómica y nutrientes
 4. Nutrigenómica y longevidad
 5. Conclusión
-

1. Introducción

Actualmente se calcula que la edad máxima biológica del ser humano es de unos 130 años, es la edad máxima para la cual estamos programados genéticamente. Si en general no llegamos a esta edad es porque una serie de factores ambientales afectan a nuestra maquinaria metabólica agotándola antes de tiempo. Como hoy en día la genética con la que nacemos no se puede manipular, la única opción que queda para mantener la salud es, sabiendo qué predisposiciones genéticas se tienen y a qué enfermedades, intentar modificar el estilo de vida o la nutrición, para evitar desarrollar la enfermedad. Si se conocen cuáles son los factores de riesgo que afectan a cada uno, y se dispone de una estrategia nutricional y de estilo de vida para contrarrestarlos, el ser humano podría llegar teóricamente a vivir esos 130 años. Sin embargo, los riesgos genéticos, ambientales y nutricionales son individuales, y por tanto las posibles soluciones deben ser individuales, personalizadas, según el riesgo individual.

2. La nueva ciencia de la nutrigenómica

Los efectos a largo plazo de la nutrición en la salud fueron resumidos por Ludwig Andreas Feuerbach, quien en 1864 escribió “Der Mensch ist was isst er” o “El hombre es lo que come”. De hecho, la importancia de la nutrición para la prevención de la enfermedad ha sido reconocida desde los tiempos de Hipócrates 460-377 a.C. quien dijo “la comida sea tu medicina y la medicina sea tu alimento”.

La nutrición es uno de los factores del estilo de vida que puede contribuir al desarrollo y progresión de enfermedades crónicas como diabetes, cáncer, arterosclerosis, enfermedades

neurodegenerativas, etc., degradando la calidad de vida del ser humano y afectando a su vez al proceso de envejecimiento. (93,94).

La genómica nutricional estudia la interacción de los alimentos y sus componentes con el genoma a nivel molecular, celular y sistémico con el objetivo de utilizar la dieta para prevenir o tratar la enfermedad. En la genómica nutricional se utilizan dos términos: nutrigenómica y nutrigenética (Figura 9).

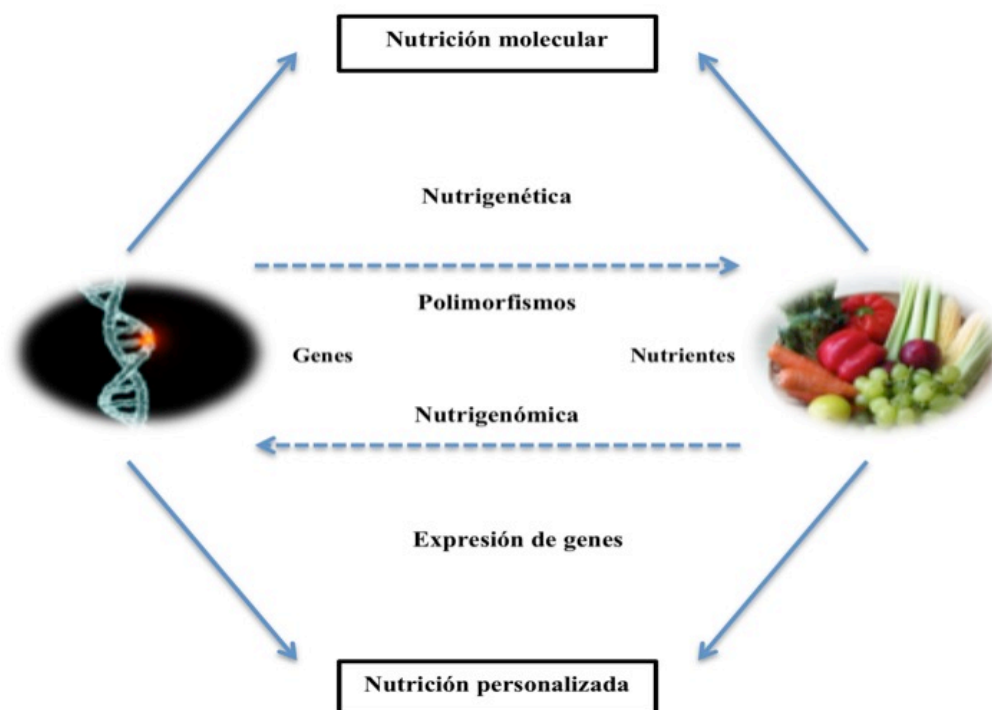


Figura 9. Esquema descriptivo de las interacciones gen-nutriente en la nutrición molecular.

En los últimos años ha surgido los términos nutrigenómica y nutrigenética. La nutrigenómica se define como el estudio de las relaciones moleculares entre la nutrición y la respuesta a los genes con el objetivo de extrapolar cómo dichos cambios nutricionales pueden afectar la salud humana y por consiguiente, encontrar la clave para el aumento de la vida. La nutrigenómica engloba el efecto de los nutrientes en el genoma, proteoma y metaboloma. La nutrigenética se define como el estudio del efecto de la variación genética en la interacción entre la dieta y enfermedad, es decir, la influencia de nuestros genes sobre la nutrición. Esto incluye la identificación y

caracterización de las variantes génicas asociadas a las diferentes respuestas frente a los nutrientes o responsables de ellas. A la nutrigenética también se le ha llamado nutrición personalizada o nutrición individualizada (Figura 10). Lo que se busca con la nutrición personalizada es clasificar a los individuos por grupos acorde a sus genes y aplicar una nutrición adecuada a sus necesidades permitiendo una mejora en su salud y retrasando el proceso de envejecimiento (95, 96) Un ejemplo de nutrigenética serían las personas celíacas, cómo sus genes responden a la presencia del gluten.

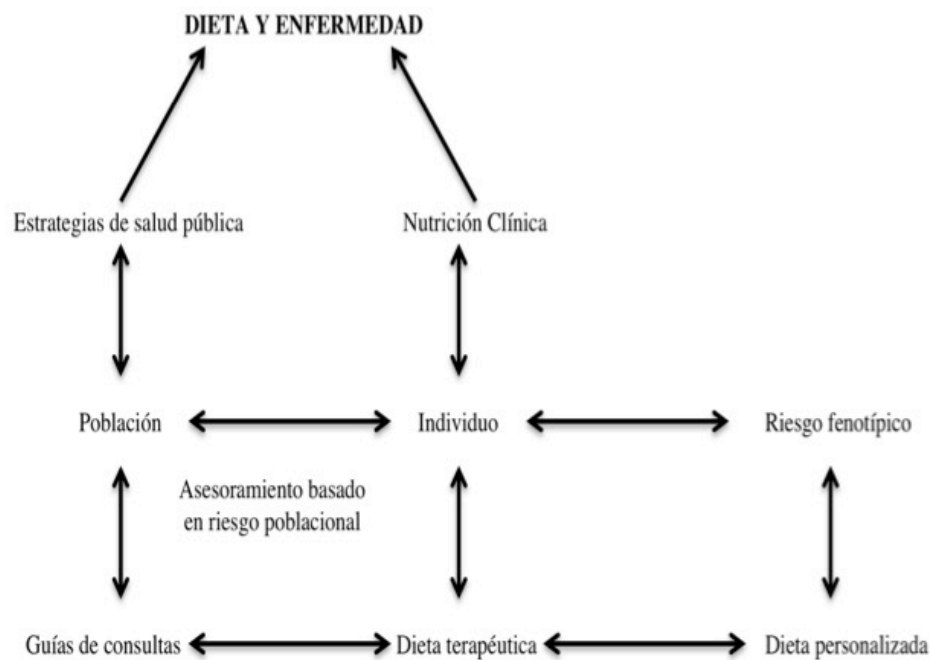


Figura 10. Relación entre dieta y enfermedad: hacia una dieta personalizada. Fuente: Modificado de Gibney MJ., Proc Nutr Soc. (2004)

3. Nutrigenómica y nutrientes

3.1. Ácidos grasos

Una gran variedad de ácidos grasos tienen efectos reguladores a través del receptor nuclear kappa (NF-kB). Los ácidos grasos saturados activan NF-kB, produciendo la activación de procesos inflamatorios o factores promotores de necrosis o de hiperglucemia siendo una respuesta negativa para el organismo, por el contrario los ácidos grasos mono y poliinsaturados inhiben la activación, dando como resultado la disminución de los trastornos cardiovasculares. (97,98).

El ácido docosahexaenoico (22:6 n-3, DHA) lleva a cabo su acción a través de la interacción con receptores del tipo PPAR. DHA está relacionado con la protección del sistema nervioso ya que mediante la activación del PPAR-gamma disminuye la producción de citoquinas inflamatorias. (99,100).

Otro ácido graso de extenso estudio por sus efectos en la salud es el ácido linoleico conjugado (CLA). Este ácido graso ha demostrado modular el peso corporal, prevenir el desarrollo de ciertos tipos de cáncer, proteger del desarrollo de aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (101). Sus efectos están relacionados con la interacción con NF-kB, PPARs y SREBP.

3.2. Hidratos de carbono

Los hidratos de carbono (HdC) tienen la función de regular genes mediante elementos de respuesta a carbohidratos (ChREBP), así bien, el hígado decide si los HdC van hacia una vía glucogénica o si se expresan enzimas que intervienen en la lipogénesis (102). La activación de ChREBP ocurre con altos niveles de carbohidratos y la inactivación con bajos niveles.

Los HdC también regulan la lipogénesis en el hígado mediante el factor de transcripción XBP-1 (permitiendo una adecuada configuración de las proteínas del retículo endoplasmático). La expresión de esta proteína aumenta en gran medida en ratones con dietas altas en HdC, por lo que se cree que XBP-1 juega un papel importante en la dislipemia humana (103).

3.3. Proteínas

Las proteínas de la dieta no ejercen una regulación directa sobre los genes, pero al quedar libres los aminoácidos algunos regulan la expresión génica. Un bajo aporte de aminoácidos no esenciales produce disminución de la síntesis de norepinefrina y AMPc, alterando la síntesis proteica (104).

3.4. Vitaminas

Las vitaminas liposolubles A, D y E se unen a receptores nucleares modulando de forma específica la expresión de genes vinculados en el metabolismo energético (105-107).

La vitamina E (homólogo de alfa-tocoferol) es conocida por su actividad antioxidante, pero en cantidades elevadas puede ser procarcinogénica (108).

La vitamina C (ácido ascórbico), requiere un transportador en el epitelio intestinal que es dependiente de sodio, conocido como SVCT1 (109). El gen de este transportador es expresado principalmente en riñón, intestino delgado e hígado. Se ha descubierto una serie de polimorfismos

para este gen en poblaciones africanas y caucásicas, lo que puede ser fisiológicamente aceptable para una población no lo es para otra.

La vitamina B12 (cianocobalamina) en condiciones de bajo aporte produce sustitución de timina por uracilo en el ADN produciendo también un patrón anormal de metilaciones de la cromatina (cambios epigenéticos) (110). Por otra parte, un aporte adecuado de folatos permite la expresión de la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) que es la encargada de realizar correctamente metilaciones en sectores específicos de la cromatina (111).

3.5. Flavonoides y polifenoles

Los flavonoides comprenden una amplia familia de compuestos naturales. Se ha observado que algunos flavonoides inhiben el receptor NF-kB-p65, involucrado en procesos inflamatorios asociados al cáncer (112). Los polifenoles son compuestos bioactivos en los alimentos. Un ejemplo es el resveratrol, este polifenol derivado de la uva, también se puede encontrar en el vino tinto, fresas, arándanos y moras, posee beneficios para la salud como propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas, antitrombóticas, entre otros.

3.6. Minerales

Los minerales pueden afectar la transcripción de genes; así, la deficiencia de hierro tienen un efecto global ya que la expresión de algunos genes aumenta, mientras que en otros por el contrario, disminuye (113).

En el colón de ratas, el hierro y el calcio tienen efectos contrapuestos en la expresión de proteínas relacionadas con procesos carcinogénicos (114). El hierro aumenta la citotoxicidad carcinogénica y el calcio la inhibe, debido a la acción diferencial sobre el gen pentatraxin de la mucosa, el hierro lo inhibe en su expresión mientras que el calcio lo induce (115).

4. Nutrigenómica y longevidad

En la actualidad, el estilo de vida del ser humano se mueve a una velocidad mucho más rápido de lo que su genoma puede evolucionar, dando lugar a una especie de torre de Babel donde el diálogo entre el genoma y el medio ambiente se rompe, no se entienden entre ellos y como consecuencia se producen las enfermedades asociadas con el envejecimiento. Por ello, el control de la ingesta de alimentos es un factor ambiental clave para la prevención en el desarrollo de patologías. Los beneficios máximos de aprovechar el poder de la genómica para la prevención

dietética de las enfermedades son inmensas y es un enfoque futuro para la investigación nutricional.

La transcriptómica es hoy posible gracias a la utilización de microsecuencias que puede perfilar las pautas de expresión génica de miles de genes, o incluso del genoma entero a través de un solo experimento. La proteómica permite en el presente estudiar el conjunto de proteínas de una célula o tejido en cualquier momento, permitiendo determinar el papel de las proteínas dentro de las células e incluso el papel de las moléculas con las que interactúan. Por último, el metabolómica facilita la investigación de las vías metabólicas. Todas estas técnicas pueden combinarse permitiendo una mejor comprensión de la influencia de los nutrientes específicos sobre el organismo.

Uno de los objetivos de la genómica nutricional es el de encontrar polimorfismos genéticos que revelen una significativa interacción gen-dieta, proporcionando herramientas para establecer recomendaciones personalizadas.

4.1. Interacciones gen-nutriente

En primer lugar, se considera el desarrollo del feto y las condiciones dentro del útero como primera interacción gen-nutriente. En segundo lugar, los defectos metabólicos congénitos y la nutrición en los primeros años de vida. En tercer lugar, las enfermedades multifactoriales, como arteriosclerosis y cáncer, siendo necesaria una exposición a largo plazo de las mismas pautas dietéticas para el desarrollo del fenotipo de estas enfermedades.

4.2. Interacciones gen-dieta en las enfermedades crónicas multifactoriales relacionadas con la edad

Las enfermedades multifactoriales como la enfermedad cardiovascular, el cáncer, la osteoporosis y las enfermedades neurológicas se asocian habitualmente al proceso de envejecimiento. Aunque es una utopía la completa eliminación del declive relacionado con la edad, se ha observado que el uso de determinados antioxidantes (por ejemplo, el resveratrol, el té verde, el ácido lipoico) y compuestos metabólicos (como la acetil-L-carnitina y coenzima Q10) han mejorado la calidad de vida y retrasado el desarrollo de enfermedades vinculadas con la edad, actuando sobre los radicales libres y los procesos de inflamación. (116).

La coenzima Q10 y la L-carnitina desempeñan un papel fundamental en los procesos bioenergéticos en la mitocondria. La función mitocondrial y la producción de energía pueden estar protegidos por la acción de estas moléculas.

Aunque la L-carnitina es una molécula de ácido graso de transporte en la mitocondria para la beta-oxidación, se ha demostrado que tiene otras funciones. La L-carnitina como antioxidante es capaz de eliminar los radicales libres de forma física, química y biológica. Entre sus efectos están proteger a los tejidos de las radiaciones ionizantes, la extinción de ROS, la producción del factor de transcripción NRF2 (117,118). Además, se ha demostrado que la L-carnitina es capaz de revertir la condición de la neurodegeneración causa por excitotoxicidad en los cerebros de las ratas tratadas con ácido quinolínico y ácido 3-nitropropiónico, agentes oxidantes demasiado fuertes. (119).

La acción de la coenzima Q10 (CoQ) en ratones ha demostrado un menor deterioro cognitivo y psicomotor. Estudios en ratones relativamente viejos (17,5 meses) alimentados con una dieta suplementada con alta concentración de CoQ (2,81 mg/g), mostraron después de seis semanas de tratamiento mejora en la actividad locomotora espontánea y la coordinación motora, además un menor daño oxidativo en proteínas mitocondriales de corazón, hígado, músculo esquelético y cerebro (120).

5. Conclusión

En conclusión, la nutrigenética y nutrigenómica son herramientas importantes para la prevención del desarrollo de enfermedades asociadas con la edad, permitiendo aportar recomendaciones dietéticas personalizadas basadas en la composición genética de cada individuo mediante el conocimiento del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) o secuenciando el genoma completo.

IX. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Como se describe en el trabajo, el erradicar el proceso de envejecimiento es todavía imposible pero existen medidas que pueden retrasarlo, mejorando y alargando la esperanza de vida.

Hoy en día se sabe, que a través de nuestra evolución biomolecular se han desarrollado líneas de defensa ante las lesiones oxidativas, pero no son del todo suficientes. Se da gran importancia al consumo de fuentes exógenas de antioxidantes a través de nuestra alimentación.

Uno de los siete pecados capitales es la gula. Y por contrapartida, la moderación e incluso la frugalidad son consideradas virtudes poco practicadas en una sociedad excesiva como la actual. El consumo de una dieta de restricción calórica (RC), es una de las modificaciones exógenas que ha cobrado más importancia en los últimos años, pues ha demostrado tener efectos beneficiosos en el proceso de envejecimiento en las diferentes especies, desde organismo invertebrados hasta vertebrados, incluyendo los seres humanos; sin embargo, los mecanismos que subyacen a esta intervención para generar estos efectos positivos no están claramente identificados. Pese a todo, la dificultad para obtener resultados en un periodo de tiempo corto, la propia adaptación en los seres humanos, el riesgo en la aplicación en personas de edad avanzada que puede llevar a pérdida de masa muscular y ósea, y la posibilidad de una práctica incorrecta que pueda generar un déficit nutricional limitan los estudios. Aún con todo, la restricción calórica supone un foco creciente de interés en la comunidad científica gracias a los numerosos resultados sobre la salud. Diversos científicos a nivel internacional apoyan e investigan este proceso.

Por otra parte, la epigenética se considera un importante mecanismo que asocia la restricción calórica con su máximo potencial, traduciéndose en la inhibición de enfermedades relacionadas con la edad y un retraso del proceso de envejecimiento. Así bien, se destacan dos mecanismos epigenéticos, la metilación del ADN y la modificación de las histonas. Estos dos códigos epigenéticos primarios, tienen una labor importante en la regulación de la estructura y la expresión de genes clave para provocar una respuesta global ante la restricción calórica. Finalmente, este trabajo valora también la importancia de la nutrigenética y la nutrigenómica como herramientas claves para la prevención del desarrollo de enfermedades asociadas con la edad, permitiendo aportar recomendaciones dietéticas individualizadas basadas en la composición genética de cada individuo mediante el conocimiento del polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) o secuenciando el genoma completo.

A través del estudio realizado en envejecimiento, restricción calórica y epigenética y genómica nutricional, se pretende conseguir un equilibrio que lleve a un menor desarrollo de enfermedades y



un aumento de la esperanza de vida. Sin embargo, se considera un tema espinoso, ya que el envejecimiento es por definición la expresión de todos los factores que nos afectan acumulados a lo largo de la vida, y aislar uno sólo de esos factores y otorgar tanto peso siempre genera debate. Pero puede ser un camino para que en un futuro no muy lejano gocemos de más años y mejor calidad de vida.

X. BIBLIOGRAFÍA

1. De Lorenzo D, Serrano J, Portero-Otín M, Pamplona R. Nutrición y nutrigenética. Hacia la nutrición personalizada, Libbooks (2011)
2. Festy D. Cómo prevenir el envejecimiento: Guía práctica de antioxidantes. RobinBook (2012)
3. McCay CM *et al.*, The effect of retarded growth upon length of lifespan and upon ultimate body size. *Journal of Nutrition* 1935; 10: 63–79
4. Weindruch R *et al.*, Caloric intake and aging. *New England Journal of Medicine* 1997; 337: 986– 994
5. Robert L. Longevity and aging, genetic and post-genetic mechanisms. Which target to choose for postponing and treating age-related diseases. *Eur Geriatr Med* 2012; 3:61–6
6. Koubova J *et al.*, How does calorie restriction work? *Genes Dev* 2003; 17:313–21
7. Jervis, KM *et al.*, Effects of caloric restriction on gene expression along the epididymis of the Brown Norway rat during aging. *Exp. Gerontol* 2003; 38: 549–560
8. Chen, H. Gene expression by the anterior pituitary gland: effects of age and caloric restriction. *Mol. Cell. Endocrinol* 2004; 222: 21–31.
9. Mattson MP *et al.*, Modification of brain aging and neurodegenerative disorders by genes, diet, and behavior. *Physiol. Rev* 2002; 82: 637– 672
10. a) Cohen, HY *et al.*, Acetylation of the C terminus of Ku70 by CBP and PCAF controls Bax- mediated apoptosis. *Mol. Cell*, 2004a; 13: 627–638.
b)Cohen, HY *et al.*, Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004b; 305: 390–392.
11. Motta, MC *et al.*, Mammalian SIRT1 represses forkhead transcription factors. *Cell*, 2004; 116:551–563.
12. Vaziri H *et al.*, hSIR2(SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*, 2001; 107:149–159.
13. Picard F *et al.*, Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 2004; 429:771–776.
14. Puigserver P *et al.*, Repeated mild heat shock delays ageing in cultured human skin fibroblasts. *Biochem. Mol. Biol. Int.*, 2004; 45:753–759.
15. Dutta C *et al.*, *Muscle Nerve* 1997; 5:S5
16. Ludatscher R *et al.*, *Exp. Gerontol.*,1983; 18:113.
17. M. H. Goyns *et al.*, *Mech. Ageing Dev.* 1998; 101:73
18. Blog 20 minutos. [portal de Internet] [actualizado el 31 de Mayo] Disponible en : <http://blogs.20minutos.es/el-nutricionista-de-la-general/2014/04/04/telomeros-restriccion-calorica-y-ratones-tras-el-elixir-de-la-vida-eterna/>
19. Messaoudi I *et al.*, Delay of T cell senescence by caloric restriction in aged long-lived nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103:19448–19453.
20. Lane MA *et al.*, Calorie restriction lowers body temperature in rhesus monkeys, consistent with a postulated anti-aging mechanism in rodents. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:4159–4164.
21. Zainal TA *et al.*, Caloric restriction of rhesus monkeys lowers oxidative damage in skeletal muscle. *FASEB J* 2000; 14:1825–1836.
22. Kayo T *et al.*, Influences of aging and caloric restriction on the transcriptional profile of skeletal muscle from rhesus monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2001; 98: 5093–5098.
23. Chan YC *et al.*, Dietary, anthropometric, hematological and biochemical assessment of the nutritional status of centenarians and elderly people in Okinawa, Japan. *J Am Coll Nutri* 1997;16:229–235.
24. Kagawa Y. Impact of Westernization on the nutrition of Japanese: changes in physique, cancer, longevity and centenarians. *Prev Med* 1978; 7:205–217.
25. Martin CK *et al.*, Effect of calorie restriction on the free-living physical activity levels of nonobese humans: results of three randomized trials. *J Appl Physiol* 2011; 110(4): 956–963.
26. Heilbronn LK *et al.*, Pennington CALERIE Team. Effect of 6-month calorie restriction on biomarkers of longevity, metabolic adaptation, and oxidative stress in overweight individuals: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006; 295:1539–1548.
27. Redman LM *et al.*, Effect of calorie restriction with or without exercise on body composition and fat distribution. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007
28. Racette SB *et al.*, One year of caloric restriction in humans: Feasibility and effects on body composition and abdominal adipose tissue. *Journal of Gerontology and Medical Science* 2006; 61A:943–950.

29. Weiss EP *et al.*, Improvements in glucose tolerance and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:1033–1042.
30. Villareal DT *et al.*, Bone mineral density response to caloric restriction-induced weight loss or exercise-induced weight loss. *Arch Intern Med* 2006; 166:2502–2510.
31. Chen CY *et al.*, Resveratrol upregulates heme oxygenase-1 expression via activation of NF-E2-related factor 2 in PC12 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005; 331:993–1000.
32. Hsieh TC *et al.*, Induction of quinone reductase NQO1 by resveratrol in human K562 cells involves the antioxidant response element ARE and is accompanied by nuclear translocation of transcription factor Nrf2. *Med. Chem.* 2006; 2:275–285.
33. Tanigawa S *et al.*, Action of Nrf2 and Keap1 in ARE-mediated NQO1 expression by quercetin. *Free Radic. Biol. Med.* 2007; 42:1690–1703.
34. Sanhueza J *et al.*, Receptores nucleares y regulación de la expresión génica por ácidos grasos poliinsaturados: Algo más que producción de energía y esencialidad. *Rev Chil Nutr* 2006; 33: 150-61
35. Sung B *et al.*, Modulation of PPAR in aging, inflammation, and calorie restriction. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, 2004; 59: 997–1006.
36. Hedrick SM. The cunning little vixen: FoxO and the cycle of life and death. *Natl. Immunol.*, 2009; 10:1057–1063.
37. Canto' C *et al.*, Caloric restriction, SIRT1 and longevity. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2009; 20:325–331.
38. Quintas A *et al.*, Age-associated decrease of SIRT1 expression in rat hippocampus: prevention by late onset caloric restriction. *Exp. Gerontol*, 2012; 47:198–201.
39. Nisoli E *et al.*, Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *Science*, 2005; 310: 314–317.
40. Frescas D *et al.*, Nuclear trapping of the forkhead transcription factor FoxO1 via Sirt-dependent deacetylation promotes expression of glucogenetic genes. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280:20589–20595.
41. Kobayashi Y *et al.*, SIRT1 is critical regulator of FoxO-mediated transcription in response to oxidative stress. *Int. J. Mol. Med.*, 2005; 16:237–243.
42. Yeung F *et al.*, Modulation of NFkappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J.*, 2004; 23:2369–2380.
43. Herranz D *et al.*, Sirt1 improves healthy ageing and protects from metabolic syndrome-associated cancer. *Nat. Commun.* 2010; 1:1–8.
44. Howitz KT *et al.*, Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003; 425:191–196.
45. Valenzano DR *et al.*, Resveratrol prolongs lifespan and retards the onset of age-related markers in a short-lived vertebrate. *Curr. Biol.* 2006; 16:296–300.
46. Pearson KJ *et al.*, Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab.* 2008; 8: 157–168
47. Barger JL *et al.*, A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *PLoS ONE* 2008; 3: e2264.
48. Mayers JR *et al.*, Resveratrol treatment in mice does not elicit the bradycardia and hypothermia associated with calorie restriction. *FASEB J.* 2009; 23:1032–1040.
49. Lagouge M *et al.*, Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* 2006; 127: 1109–1122.
50. Park SJ *et al.*, Resveratrol ameliorates aging-related metabolic phenotypes by inhibiting cAMP phosphodiesterases. *Cell* 2012; 148: 421–433.
51. Baur JA *et al.*, Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444:337–342.
52. Hardie DG *et al.*, AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2012; 13: 251–262 .
53. Chen D *et al.*, Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. *Genes Dev.* 2008; 22:1753–1757.
54. Meplan C *et al.*, Metalloregulation of the tumor suppressor protein p53: zinc mediates the renaturation of p53 after exposure to metal chelators in vitro and in intact cells. *Oncogene* 2000; 19(46):5227–36.
55. Meplan C *et al.*, Metal ions as regulators of the conformation and function of the tumour suppressor protein p53: implications for carcinogenesis. *Proc Nutr Soc* 1999; 58(3):565–71.
56. Meplan C *et al.*, Cadmium induces conformational modifications of wild-type p53 and suppresses p53 response to DNA damage in cultured cells. *J Biol Chem* 1999; 274(44):31663–70.
57. Steinbrecher A *et al.*, Effects of selenium status and polymorphisms in selenoprotein genes on prostate cancer risk

- in a prospective study of European men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(11):2958–68.
58. Carlson AJ *et al.*, Apparent prolongation of the life span of rats by intermittent fasting. *J. Nutr.*, 1946; 31:363–375.
 59. Lee C *et al.*, Fasting vs. dietary restriction in cellular protection and cancer treatment: from model organisms to patients. *Oncogene*, 2011; 30: 3305–3316.
 60. Waddinton CH. The Epigenotype. *Endeavour*, 1 (1942), pp 18-20
 61. Egger G *et al.*, Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature* 2004; 429: 457–463.
 62. Leibiger IB *et al.*, Sirt1: a metabolic master switch that modulates lifespan. *Nat Med* 2006; 12:34-36.
 63. Bordone L *et al.*, SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging Cell* 2007; 6:759-767.
 64. Cohen HY *et al.*, Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 305:390-392.
 65. Razin A *et al.*, DNA methylation and gene function. *Science* 1980; 210:604–610.
 66. Cross SH *et al.*, CpG islands and genes. *Curr Opin Genet Dev* 1995; 5:309-314.
 67. Callinan PA *et al.*, The emerging science of epigenomics. *Hum Mol Genet* 2006; 15:R95-R101.
 68. Chan MF *et al.*, Relationship between transcription and DNA methylation. *Curr Top Microbiol Immunol* 2000; 249:75-86.
 69. Goll MG *et al.*, Eukaryotic cytosine methyltransferases. *Annu Rev Biochem* 2005; 74:481-514.
 70. Chen T *et al.*, The PWWP domain of Dnmt3a and Dnmt3b is required for directing DNA methylation to the major satellite repeats at pericentric heterochromatin. *Mol Cell Biol* 2004; 24:9048-9058.
 71. Okano M *et al.*, DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* 1999; 99:247-257.
 72. Knapowski J *et al.*, Pathophysiology of ageing. *J Physiol Pharmacol* 2002; 53:135-146.
 73. Issa, JP *et al.*, Methylation of the oestrogen receptor CpG islands links ageing and neoplasia in the human colon. *Nat. Genet.*, 1994; 7:536–540.
 74. Waki T *et al.*, Age-related methylation of tumor suppressor and tumor-related genes: an analysis of autopsy samples. *Oncogene* 2003; 22:4128-4133.
 75. Kim TY *et al.*, Methylation of RUNX3 in various types of human cancers and premalignant stages of gastric carcinoma. *Lab Invest* 2004; 84:476-484.
 76. Clayton AL *et al.*, Enhanced histone acetylation and transcription: a dynamic perspective. *Mol Cell* 2006; 23:289-296.
 77. de Ruijter AJ *et al.*, Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J* 2003; 370:737-749.
 78. Kadonaga JT. Eukaryotic transcription: an interlaced network of transcription factors and chromatin-modifying machines. *Cell* 1998; 92:307-313.
 79. Li Y *et al.*, Glucose restriction can extend normal cell lifespan and impair precancerous cell growth through epigenetic control of hTERT and p16 expression. *FASEB J.*, 2010; 24:1442–1453.
 80. Lin SJ *et al.*, Requirement of NAD and SIR2 for life- span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science* 2000; 289:2126-2128.
 81. Guarente L *et al.*, Calorie restriction: the SIR2 connection. *Cell* 2005; 120:473-482.
 82. Bordone L *et al.*, SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging Cell* 2007; 6:759-767.
 83. Cohen HY *et al.*, Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 305:390-392.
 84. Luo J *et al.*, Negative control of p53 by Sir2 α promotes cell survival under stress. *Cell* 2001; 107:137-148.
 85. Vaziri H *et al.*, hSIR2^{SIRT1} functions as a NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell* 2001; 107:149-159.
 86. Brunet A *et al.*, Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the sirt1 deacetylase. *Science* 2004; 303:2011-2015.
 87. Motta MC *et al.*, Mammalian sirt1 represses forkhead transcription factors. *Cell* 2004; 116:551-563.
 88. Schilling MM *et al.*, Gluconeogenesis: re-evaluating the FOXO1-PGC-1 α connection. *Nature* 2006; 443:E10-E11.
 89. Vega RB *et al.*, The coactivator PGC-1 cooperates with peroxisome proliferator-activated receptor α in transcriptional control of nuclear genes encoding mitochondrial fatty acid oxidation enzymes. *Mol Cell Biol* 2000; 20:1868-1876.

90. Jeong J *et al.*, Sirt1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Exp Mol Med* 2007; 39:8-13.
91. Cohen HY *et al.*, Acetylation of the C terminus of Ku70 by CBP and PCAF controls Bax-mediated apoptosis. *Mol Cell* 2004; 13:627-638.
92. Li Y *et al.*, Epigenetic regulation of calorie restriction in aging. *BMC Med.*, 2011; 9:98.
93. Joseph J *et al.*, Nutrition, brain aging, and neurodegeneration. *J Neurosci.* 2009; 29:12795–801
94. Lillycrop KA *et al.*, Epigenetic mechanisms linking early nutrition to long term health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2012; 26:667–76
95. Kritchevsky D. Caloric restriction and cancer. *J Nutr Sci Vitaminol* 2001;47:13-9.
96. Trayhurn P. Nutritional genomics – “nutrigenomics.” *Br. J. Nutr.* 2003; 89:1– 2
97. Bellido C *et al.*, Butter and walnuts, but not olive oil, elicit postprandial activation of nuclear transcription factor kappaB in peripheral blood mononuclear cells from healthy men. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1487-91.
98. De Martin R *et al.*, The transcription factor NF-kappa B and the regulation of vascular cell function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: E83-E8.
99. Caputo M *et al.*, Selective regulation of UGT1A1 and SREBP-1c mRNA expression by docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids. *J Cell Physiol* 2011; 226:187-93.
100. Lawrence T *et al.*, The resolution of inflammation: anti-inflammatory roles for NF-kappaB. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 519-23.
101. Sanhueza J *et al.*, Acido linoleico conjugado: Un ácido graso con isomería trans potencialmente beneficioso. *Rev Chil Nutr* 2002; 29: 98-105.
102. Yamashita H *et al.*, A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 9116-9121.
103. Lee AH *et al.*, Regulation of Hepatic Lipogenesis by the Transcription Factor XBP1. *Science* 2008; 320(5882):1492-6.
104. Zhang P *et al.*, The GCN2 kinase is required for adaptation to amino acid deprivation in mice. *Molec Cell Biol* 2002; 22: 6681-6688.
105. Holick MF. Diabetes and the vitamin D connection. *Curr Diab Rep* 2008; 8: 393-398.
106. Tai K *et al.*, Vitamin D, glucose, insulin, and insulin sensitivity. *Nutrition* 2008; 24: 279-85.
107. Wise C *et al.*, A strategy for analyzing gene-nutrient interactions in type 2 diabetes. *J Diabetes Sci Technol* 2009; 3: 710-21.
108. Birringer M *et al.*, Tocopherols are metabolized in HepG2 cells by side chain omega oxidation and consecutive beta-oxidation. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 226-32.
109. Wang H *et al.*, Human Na(+)-dependent vitamin C transporter 1 (hSVCT1): primary structure, functional characteristics and evidence for a non-functional splice variant. *Biochim Bio-phys Acta* 1999; 1461:1-9.
110. Ma J *et al.*, Methylene tetrahydrofolate reductase polymorphism, dietary interactions, and risk of colorectal cancer. *Cancer Res* 1997; 57: 1098-1102.
111. Kim YI. Folate and carcinogenesis: evidence, mechanisms, and implications. *J Nutr Biochem* 1999; 10: 66-88.
112. Sivaramakrishnan V *et al.*, Morin regulates the expression of NF-kappaB-p65, COX-2 and matrix metalloproteinases in diethylnitrosamine induced rat hepatocellular carcinoma. *Chem Biol Interact* 2009; 180: 353-9.
113. Tosco A *et al.*, Copper binds the carboxy-terminus of trefoil protein 1 (TFF1), favoring its homodimerization and mitogenic activity. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 1943-55.
114. Sesink ALA *et al.*, Red meat and colon cancer: dietary haem-induced colonic cytotoxicity and epithelial hyperproliferation are inhibited by calcium. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1653- 9.
115. van der Meer-van Kraaij C *et al.*, Differential gene expression in rat colon by dietary heme and calcium. *Carcinogenesis* 2005; 26: 73-9. 133.
116. Kelsey NA *et al.*, Nutraceutical antioxidants as novel neuroprotective agents. *Molecules* 2010; 15:7792–814 .
117. Topcu-Tarladacalisir Y *et al.*, Role of L- carnitine in the prevention of seminiferous tubules damage induced by gamma radiation: a light and electron microscopic study. *Arch Toxicol* 2009; 83:735–46 .
118. Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci.* 2006; 78:803–11.
119. Silva-Adaya D *et al.*, Excitotoxic damage, disrupted energy metabolism, and oxidative stress in the rat brain: antioxidant and neuroprotective effects of L-carnitine. *J Neurochem.* 2008; 105:677–89.
120. Ritu A *et al.*, Coenzyme Q₁₀ supplementation reverses age-related impairments in spatial learning and lowers protein oxidation, *American Aging Association* 2012; 35:1821–1834.