



# Caloric restriction and longevity

**Title in Spanish:** *Restricción calórica y longevidad*

Bartolomé Ribas Ozonas<sup>1,\*</sup>, María Cascales Angosto<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Académicos de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, Madrid.

**ABSTRACT:** Caloric restriction (CR) means to maintain a low-caloric diet balanced in nutrients, in order to avoid obesity, lower the development of old age or achieve greater longevity in good health. I.e. an energy intake for the energy needs of human body. Every human organism has a particular metabolism that depends on its genetic and epigenetic characteristics, and we must adapt its diet, hoping to enjoy good health and achieve greater longevity. Everything that we consume too much, our body depending on our physiology and molecular biology, metabolizes it, getting in energy, excretes it or stores it in the form of fat. The excess of diet leads to cell damage and shortening of life. The mitochondria is like a metabolic turbine of energy production, and eliminates the last steps of nutrients as CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O. Its functioning and its good physiological condition is cause of longevity. In humans, caloric restriction (CR) is beneficial, and prevents a long list of diseases of the elderly which we quote in the text, protects against the causes of aging, prevents the accumulation of damage as mentioned the Spanish eminent researcher María Blasco, whose work focuses on the loss of the protective telomere of chromosome ends which kept young the cell. Telomeres become worn down during cell division, while telomerase repairs and lengthens the telomeres and obtains, according to the mentioned research, increasing active longevity. Guarante discovered that calorie restriction activated transcription of a gene called Sirtuin2 (SIR2), with capacity to delay aging. The circadian rhythm is important in the regulation of psychic, physical activity and obesity. The light of the Sun which control our hormonal rhythms (circadian rhythm) determines that the evening rises the growth hormone (HGH) that uses our fat reserves as fuel. The mitohormetic hypothesis of CR, proposes a mitochondrial organic defense response to the genetic level that induces a new epigenome, which has led several scientist to propose that "we are what we eat". A fact that has opened a new scientific discipline, Nutrigenomics, which studies the effect of the diet on the expression of the genome of our cells.

**RESUMEN:** La *Restricción calórica* (RC) consiste en ingerir una dieta reducida en calorías y equilibrada en nutrientes, con el objeto de alcanzar mayor longevidad en buen estado de salud, evitar la obesidad y evitar o retrasar las enfermedades en la ancianidad. Es decir, una ingesta suficiente para las necesidades energéticas del cuerpo humano. Cada ser humano tiene un determinado metabolismo que depende de sus características genéticas y epigenéticas, y a ellas debe adaptarse su dieta. Todo lo que consumimos en exceso, nuestro organismo y en función de nuestra fisiología y bioquímica molecular, se metaboliza, obtiene energía, se elimina o se almacena en forma de grasa. El exceso de dieta provoca daño celular y acortamiento de la vida. La mitocondria es la turbina metabólica de producción de energía, y los nutrientes acaban en CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. Su funcionamiento y su buen estado fisiológico conducen a una mayor longevidad. En seres humanos, la restricción calórica (RC) es beneficiosa, y previene una larga lista de enfermedades de la ancianidad que citamos en el texto, protege contra las causas del envejecimiento, impide la acumulación de daño como menciona la eminente investigadora española María Blasco, que se concreta en la pérdida de telómero protector de los extremos de los cromosomas y mantienen la célula joven. Los telómeros se desgastan a lo largo de la división celular, mientras que la telomerasa repara y los alarga y consigue, según la mencionada investigadora, incrementar una longevidad activa. Guarante descubrió que la restricción calórica activaba la transcripción de un gen denominado *sirtuina2* (SIR2), con capacidad para retrasar el envejecimiento. El *ritmo circadiano* es importante en la regulación de la actividad física, psíquica y la obesidad. La luz del sol que dirige nuestros ritmos hormonales (ritmo circadiano) determina que al caer la noche se eleve la *hormona de crecimiento* (HGH) que utiliza nuestra grasa de reserva como combustible. La *hipótesis mitohormética* de la restricción calórica, propone una respuesta de defensa orgánica a nivel mitocondrial y genético que induce a un nuevo epigenoma, lo que ha llevado a proponer por varios científicos que "somos lo que comemos". Hecho que ha abierto una nueva disciplina científica, la *Nutrigenómica*, que estudia el efecto de la dieta sobre la expresión del genoma de nuestras células.

\*Corresponding Author: bartolomer@ranf.com

Received: May 1, 2016 Accepted: July 1, 2016

An Real Acad Farm Vol.82, Special Issue (2016), pp. 76-86

Language of Manuscript: Spanish

## 1. INTRODUCCIÓN

La restricción calórica para una longevidad activa consiste en adaptar la dieta a las necesidades corporales individuales. Cada ser humano tiene un determinado

metabolismo que depende de sus características genéticas y epigenéticas, y a ellas debe adaptarse su dieta, es decir, seguir una restricción calórica adecuada y equilibrada (1). Debe limitarse la ingesta energética para prevenir la

obesidad, pandemia que afecta hoy día a la mayoría de las familias. Son necesarias suficientes cantidades de vitaminas, minerales y otros nutrientes importantes como aminoácidos esenciales (2).

En seres humanos, la Restricción Calórica (RC) ha demostrado reducir los niveles de colesterol, glucosa en ayuno y presión sanguínea. Por otra parte, los experimentos con especies animales hasta ahora expuestas a RC, incluidos primates, ratas, ratones, arañas, mosca *Drosophila*, lombriz de tierra y rotíferos, han mostrado un aumento de su longevidad. Por tanto, la RC es una medida dietética capaz de aumentar la longevidad máxima, comparándola con la longevidad media.

Todo lo que consumimos en exceso, en función de nuestra fisiología y bioquímica molecular, se metaboliza para obtener energía (ATP) o se almacena en forma de grasa. El ATP sintetizado en la mitocondria se convierte en energía para la actividad mecánica, física muscular o nerviosa. El número de mitocondrias en cada órgano o tejido está función de las necesidades propias de cada uno de ellos (3, 4).

Los estudios epidemiológicos sugieren que el estilo de vida, como sedentarismo, el elevado o excesivo consumo de alimentos y la adiposidad por predisposición genética son responsables del sobrepeso y de un 70 % de las enfermedades crónicas, su manifestación o agravamiento, así como de la disminución de la longevidad (5).

El sobrepeso es un claro factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades, como diabetes tipo 2, enfermedad cardiovascular y síndrome metabólico. Este último es un conjunto de diferentes entidades cuyo factor común es el estrés oxidativo. Asimismo, la restricción calórica previene desórdenes respiratorios, elevada presión arterial, osteoartritis, anormalidades reproductivas, hepatitis y algunos tipos de cáncer (6).

En obesidades persistentes aún no se sabe, de forma específica para cada una de ellas, el aporte calórico preciso que equivalga a una salud óptima y dé una mayor longevidad. En una serie de trabajos experimentales, iniciados por Guarante y seguidos por otros investigadores, se descubrió que la restricción calórica o una dieta baja en calorías activaba la transcripción de un gen denominado SIR2, con capacidad para retrasar el envejecimiento (7-9). Los ritmos circadianos que dirigen nuestros ritmos hormonales determinan que al caer la noche se eleve la HGH, u hormona de crecimiento, que utiliza nuestra grasa de reserva como combustible. Esta hormona se eleva al anochecer y alcanza su máxima secreción a la medianoche. Además de estimular el crecimiento y actividad en los niños, moviliza nuestros depósitos de grasa durante el sueño nocturno.

Es conocida la hipótesis hormética o mitohormética de la RC, debido a la implicación de las mitocondrias en el proceso de envejecimiento y longevidad activa. Propone que la dieta reducida impone un estrés biológico, aunque de baja intensidad, al organismo, lo cual suscita una respuesta de defensa orgánica a nivel mitocondrial y genético que induce a un nuevo epigenoma. Hecho que ha

abierto una nueva disciplina científica, la Nutrigenómica, que se dicta en otro capítulo de este libro, y que estudia el efecto de la dieta sobre la expresión del genoma de nuestras células. Disponemos de miles de genes que están expuestos a los infinitos compuestos alimentarios que inciden en sus microRNAs, que controlan aspectos importantes de nuestro organismo. Los microRNAs son pequeños fragmentos de 18 a 25 ribonucleótidos capaces de controlar la expresión de genes codificantes para proteínas, por ejemplo a través de la alimentación materna tanto en el embarazo como en la lactancia y a lo largo de nuestra existencia. La dieta de los adultos y los contaminantes ambientales también reglan la expresión de los microRNAs, y estos están contenidos en los alimentos animales y vegetales ejerciendo su acción, que debe ser tenida en cuenta para diversificar nuestra dieta (10, 11).

Una dieta RC diversificada ayuda a proteger contra las causas del envejecimiento y enfermedades de la ancianidad, al ralentizar la actividad mitocondrial, neutralizar con rapidez los radicales libres, mejoría de la salud y longevidad. Esta situación puede estar controlada por los genes de la longevidad que inducen la síntesis de sirtuínas (ver más adelante).

Aunque la hipótesis de la mitohormesis (excitación mitocondrial) fue un concepto puramente hipotético hasta finales de 2007, trabajos posteriores llevados a cabo en animales y en lombriz de tierra (*Caenorhabditis elegans*) pusieron de manifiesto que la restricción del metabolismo de la glucosa en la mitocondria aumenta la longevidad, al disminuir el estrés oxidativo y el daño por radicales libres del oxígeno y otras formas oxidantes de numerosos compuestos (12).

## 2. RESTRICCIÓN CALÓRICA

Clive McCay y Mary Crowell de la Universidad Cornell (13, 14) observaron que las ratas de laboratorio, alimentadas con una dieta muy reducida en calorías con los nutrientes vitales, aumentaron su longevidad dos veces más de lo esperado. De forma equivalente, Walford y Weindruch (15) comprobaron que la restricción calórica incrementaba la longevidad en ratones respecto a una dieta normocalórica. Además, los ratones con restricción calórica mantuvieron una apariencia más juvenil, aumentaron su nivel de actividad y mostraron retraso en la aparición de enfermedades asociadas al envejecimiento.

## 3. LONGEVIDAD

Un estudio realizado en el Instituto Salk de Estudios Biológicos y publicado en la revista Nature (12) determinó que el gen PHA-4 era el responsable de la longevidad bajo el efecto de la restricción calórica en animales, con efectos similares en humanos. El descubrimiento ha dado esperanzas para la síntesis de futuros medicamentos que incrementen la longevidad humana, sin embargo, un tratamiento con medicamentos no debería ser un sustituto de un estilo de vida saludable.

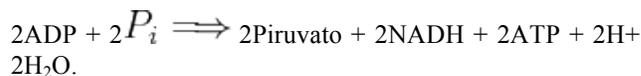
Un nuevo estudio publicado en junio de 2012 por la Universidad de Washington explicó que la limitación en la ingesta de calorías tiene como resultado una mejoría del

sistema cardiovascular, bombeo más potente del corazón y mejor adaptación a la actividad física. Todo ello sugiere una mejoría de la salud en general. Otros datos en la literatura científica informan que la dehidroepiandrosterona (DHEA) es una prohormona endógena precursora de los andrógenos y estrógenos que es eficaz en la prevención del envejecimiento y estimulante de una longevidad activa. La secreción de la dehidroepiandrosterona (DHEA) y de su éster sulfatado disminuye con la edad. Su inclusión como suplemento dietético no ha demostrado una mejoría notable en comparación con placebo en la regeneración de las actividades hormonales durante la vejez. No obstante, los bajos niveles en sangre de esta hormona se asocian con un pobre estado de salud y signos de envejecimiento, lo que coincide con la fisiología humana en edad avanzada (3).

La investigadora española María Blasco en recientes estudios con ratones explica que la longevidad depende de la longitud de los telómeros en los extremos de los cromosomas, a mayor longitud de los telómeros al nacer se traduciría en una más larga vida y longevidad joven. Y que la longevidad dependería de la acumulación de daño celular que se refleja en el desgaste y acortamiento de los telómeros, y estos son reparados y alargados por la telomerasa, cuya administración podría incrementar la longevidad (17).

#### 4. MITOCONDRIA Y LONGEVIDAD

La mitocondria es un orgánulo intracelular que se considera totalmente integrado en las funciones celulares, tanto es así que, al dañarse, las mitocondrias repercuten en todo el organismo y en el estado general de su salud. La mitocondria afecta la expresión génica nuclear. Se trata de una respuesta coordinada con las causas que afectan al organismo. Mediante la glucólisis se obtiene energía para la célula, y consiste en diez reacciones enzimáticas consecutivas. Se realiza en el interior de la membrana plasmática o citoplasma, en condiciones anaerobias, y se degrada la molécula de glucosa en dos moléculas de ácido pirúvico. Su reacción global es: Glucosa + 2NAD<sup>+</sup> +



Las dos moléculas de piruvato son capaces de seguir otras vías metabólicas y así continuar liberando energía al organismo. Mediante el ciclo de Krebs o respiración celular, el ácido pirúvico formado en la glucólisis se oxida completamente a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O en presencia de oxígeno. Se desarrolla en dos etapas sucesivas: el ciclo de Krebs y la cadena respiratoria, asociada a la fosforilación oxidativa (Figura 1).

Existen dos teorías importantes sobre el envejecimiento, la teoría de los radicales libres y la teoría de la glicosilación, pudiendo explicar ambas el mecanismo de la restricción calórica. Una dieta excesivamente rica en calorías afecta a la mitocondria que saturada no puede neutralizar el exceso de radicales libres, y las reacciones enzimáticas de defensa tampoco, lo que tiene un efecto desfavorable sobre la célula y en consecuencia sobre el organismo en general. En esta situación las mitocondrias no funcionan, se dañan y degeneran con el aumento de concentraciones de superóxido. En situación de RC las mitocondrias trabajan holgadamente y neutralizan los radicales libres que no dañan las estructuras y membranas celulares. La eficiencia y eficacia mitocondrial de un organismo en restricción calórica tendrá menos contenido graso y necesitará menos energía para mantener su peso, lo cual significa, también, que tendrá menos glucosa sanguínea y, por tanto, menos glicosilación de las proteínas adyacentes y menos grasa que oxidar que pueda provocar aterosclerosis y otros desórdenes. Los diabéticos que sufren diabetes mellitus tipo 2 tienen insensibilidad a la insulina provocada por exposición a largo plazo a altos niveles de glucosa en sangre. La obesidad conduce a diabetes tipo 2. Este tipo de diabetes y la de tipo 1 descontrolada producen un efecto de aceleración del envejecimiento debido a los efectos arriba mencionados (6, 18).

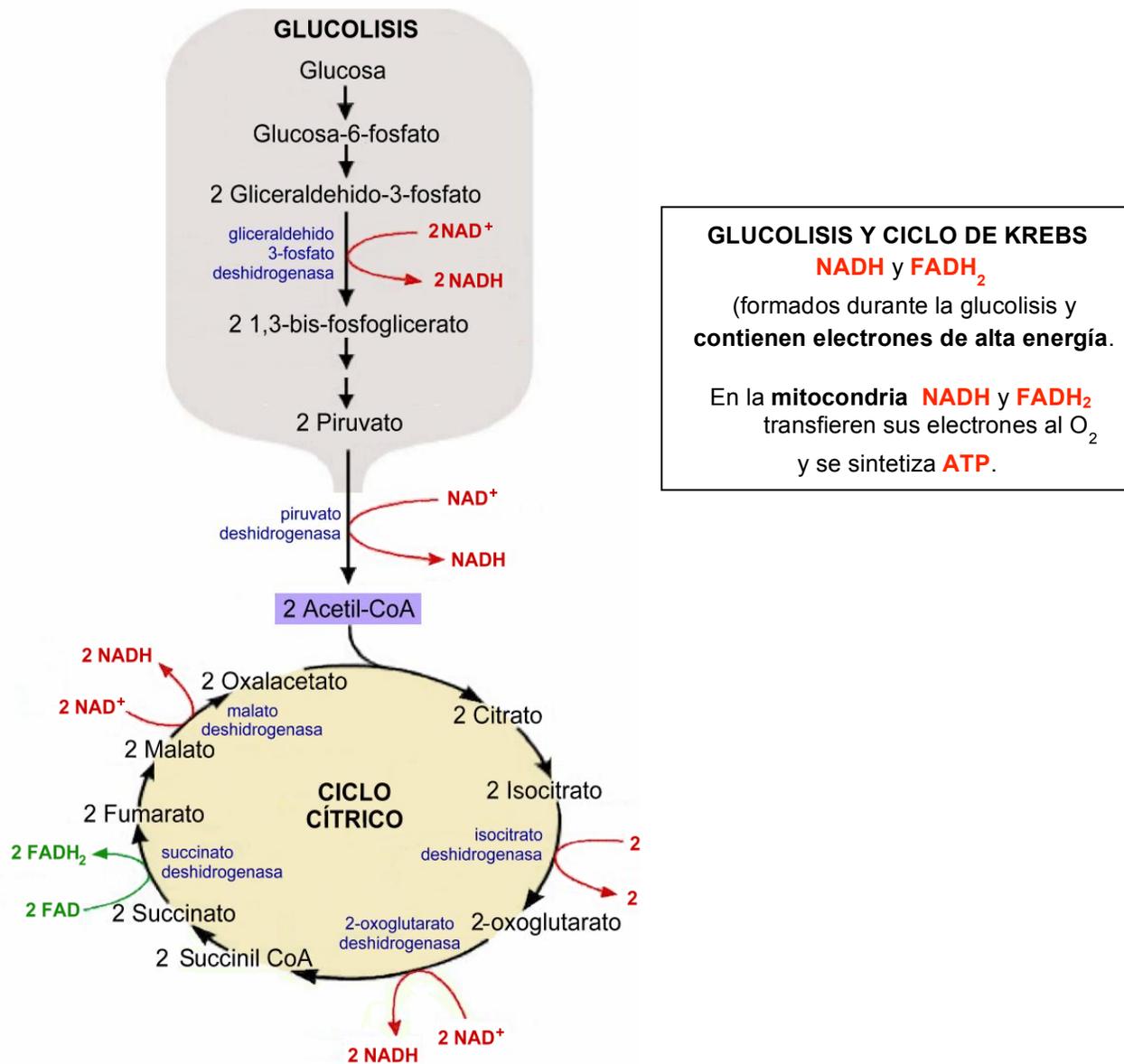


Figura 1. Esquema de la glucólisis y ciclo de Krebs de producción de energía a partir de la glucosa.

Actualmente las numerosas y recientes publicaciones han demostrado que los mecanismos de la reducción calórica intracelular y mitocondrial favorecen la neutralización de los radicales libres, inhibiendo el estrés oxidativo a través de numerosas moléculas reductoras del sistema de defensa del organismo. Si llevamos a cabo una alimentación energética equilibrada, alcanzamos una mejor salud, retrasando el envejecimiento y ayudando a reducir el colesterol y otros lípidos, la resistencia a la insulina, beneficiando el estado fisiológico y bioquímico de nuestro organismo y, en definitiva, aumentando nuestra calidad de vida y longevidad. Pero un cambio de dieta no basta, ya que debe ir acompañada de un cambio de estilo de vida, en el cual seamos conscientes de lo que es mejor u óptimo para nuestra salud.

### 5. GLICOLISIS Y CICLO DE KREBS

Tenemos presente que en la mitocondria reside la edad,

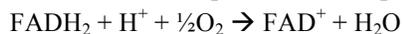
y el tiempo subjetivo de vida, que precisamente es transmitido por la mitocondria materna. La fuerza energética de los alimentos pasa por la glucólisis y el ciclo de Krebs. Respecto a este último, el metabolismo aeróbico es la forma más eficiente de obtener energía (ATP) de los nutrientes y formación de calorías (1 ATP = 7,3 kcal; un ATP produce 10.300 calorías por mol). Este proceso ocurre en la mitocondria e incluye la conversión de piruvato en acetilcoenzima-A, en el ciclo del ácido tricarboxílico (Ciclo de Krebs, Figura 1), y después la fosforilación oxidativa o cadena de transporte de electrones. La fuente básica de energía para la contracción muscular es el adenosín-trifosfato, ATP, cuya fórmula empírica es: Adenosina-PO<sub>3</sub>-PO<sub>3</sub>-PO<sub>3</sub>. Los dos últimos enlaces de fosfato son de alta energía. Cada enlace almacena 7,3 kcal de energía por mol de ATP, en condiciones normales. Por tanto, cuando se libera un radical fosfato de la molécula pueden utilizarse 7,3 kcal, y

proporcionarla a la contracción muscular u otro gasto energético.

Para mantenernos en nuestro peso es imprescindible ajustar nuestro consumo de alimento a nuestras necesidades. Las recomendaciones de la OMS (Organización Mundial de la Salud) establecen un aporte calórico de 2000 a 2500 kcal/día para un varón adulto y de 1500 a 2000 kcal/día para las mujeres. Estas necesidades disminuyen a medida que nos hacemos mayores. Un hombre de 65 años de constitución media necesitará unas 1900-2100 kcal/día, mientras que una mujer de 65 años de constitución media oscilará entre 1500-1700 kcal/día. Sin embargo, la experiencia con obesos y pacientes recomienda una restricción calórica para el hombre 1500 kcal/día y para la mujer 1200 kcal/día, para mantener una restricción calórica y para un peso adecuado.

Los "radicales libres" y otras formas oxidantes de numerosos compuestos nativos o contaminantes dañan el ADN nuclear haciendo que la célula orgánica o germinal se reproduzca defectuosamente, no lo haga o sea estéril. Las mitocondrias, que son las fuentes de energía celular y orgánica, por sintetizar ATP, también sufren, no solo en sus moléculas de ADN sino en sus membranas, cuyos efectos oxidativos, conllevan la muerte celular. Si se evita la acción de los radicales libres, las mitocondrias realizan su tarea sin perjuicio funcional. También muchas proteínas, ácidos grasos y hormonas sufren el efecto oxidativo de los radicales libres.

Los electrones ( $e^-$ ) y los protones ( $H^+$ ) derivados de la oxidación de los alimentos intervienen en una serie de reacciones de oxidación-reducción a través de las cuales son transportados al oxígeno. Estos procesos acaecen en la membrana interna de la mitocondria donde se asienta el sistema. Las moléculas transportadoras de  $e^-$  y  $H^+$  son el NADH (nicotinamin-adenín-dinucleótido reducido) y el  $FADH_2$  (flavín-adenín-dinucleótido reducido), coenzimas reducidas que, al perder un electrón y un protón, pasan a oxidadas según las siguientes reacciones:



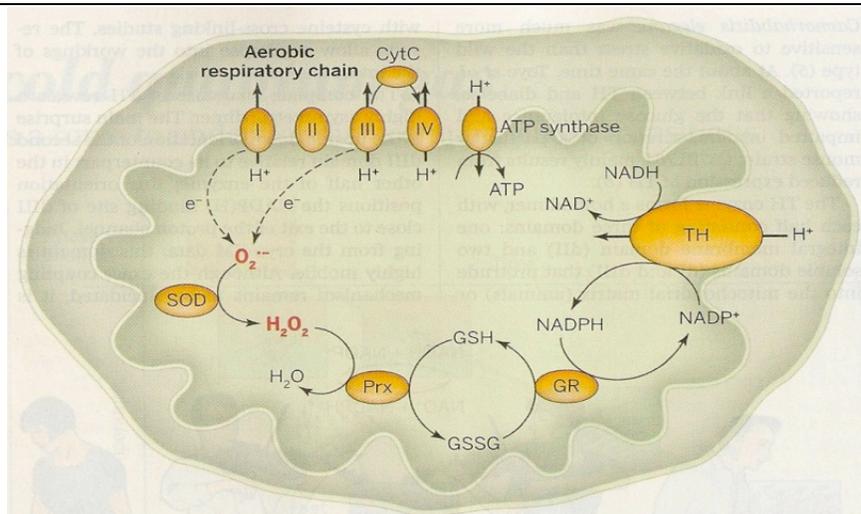
El metabolismo celular (oxidación) de los alimentos genera compuestos reducidos en todos los compartimentos celulares, los cuales transfieren sus equivalentes reductores

a los coenzimas en su forma oxidada,  $NAD^+$  y  $FAD^+$ , transformándolos en su forma reducida, antes citada. La reoxidación de los transportadores electrónicos reducidos, NADH y  $FADH_2$ , produce ATP mediante las enzimas de la cadena de transporte de electrones de la membrana interna mitocondrial. La hipótesis quimiosmótica de Mitchell propone que el transporte de electrones y la fosforilación oxidativa  $\rightarrow$  ATP son dos eventos acoplados mediante un gradiente de protones ( $H^+$ ) a través de la membrana interna mitocondrial.

A medida que los electrones de alta energía transcurren en la cadena respiratoria, la energía liberada bombea protones desde la matriz hacia el espacio inter-membrana, originando un gradiente electroquímico entre las cargas negativas de la matriz y las cargas positivas del espacio intermembrana. La energía almacenada en ese gradiente se utiliza para la síntesis del ATP por la ATP-sintasa, cuando los protones regresan a la matriz y forman con un ADP una molécula de ATP.

En la biosfera la materia es limitada de manera que su reciclaje es un punto clave en el mantenimiento de la vida en la tierra; de otro modo, los nutrientes se agotarían y la vida desaparecería. Todos los seres vivos necesitan oxígeno para generar energía, sin embargo, tienen que hacer frente a sus productos de desecho, entre ellos los radicales libres (reactive oxygen species, ROS). Estos se forman principalmente en la mitocondria causando daño oxidativo a otros componentes celulares e inducen a toda una serie de patologías expresadas en la literatura científica. La enzima clave en el sistema de defensa del organismo es la nicotinamin-nucleotido-transhidrogenasa (TH) (Figura 2).

La enzima mitocondrial transhidrogenasa (TH) produce NADPH que contribuye a la defensa contra los radicales libres de oxígeno y de otras moléculas. Los electrones-emigran de los complejos I y III al oxígeno molecular ( $O_2$ ) y se forman aniones superóxido  $O_2^-$  que por la superóxido-dismutasa (SOD) se convierten en  $H_2O_2$ , y, finalmente, por peroxidasas (Prx)+ GSH (glutatión) forman agua ( $H_2O$ ) (13, 14).



**Figura 2.** El sistema de defensa mitocondrial transforma los radicales de oxígeno a  $H_2O_2$  que es detoxificado por peroxidadas a agua con la ayuda de glutatión reducido (GSH) como sustrato. Los elevados niveles de glutatión (GSH) mitocondrial son mantenidos por la nicotinamin-adenin-dinucleotido-fosfato (NADPH)-dependiente de la glutatión-reductasa, y aquí es donde actúa la transhidrogenasa (TH) Krengel U and Törnroth-Horsefield A. (2015) *Coping with oxidative stress. Science* vol 347, 125-126.

## 6. BENEFICIOS DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA

En mamíferos roedores y también en humanos, la restricción calórica aumenta la longevidad mediante la prevención o el retraso de la aparición de enfermedades crónicas como diabetes, aterosclerosis, cardiomiopatía, trastornos autoinmunes, patologías renales y respiratorias, y cáncer. También, la restricción calórica disminuye la neurodegeneración cerebral e incrementa la neurogénesis en modelos animales de enfermedad de Alzheimer, Parkinson, Huntington e ictus aunque podría ser deletérea en casos de esclerosis lateral amiotrófica (5, 15, 19).

La restricción calórica, definida como la reducción del aporte calórico por debajo del consumo habitual voluntario sin desnutrición, retrasa el envejecimiento y aumenta la duración máxima de la vida en diferentes especies como levaduras, moscas, gusanos, peces y roedores. La magnitud de la prolongación de la vida depende de la edad más temprana de inicio de la restricción calórica, la intensidad de dicha restricción y los genes.

Con una dieta de restricción calórica se promueve la disminución de la producción de especies reactivas de oxígeno; y activación de sistemas antioxidantes que reducen el estrés oxidativo y el daño tisular inducido por radicales libres. Asimismo, ocurre disminución de niveles de T3 y de la actividad simpática que induce a disminución de la temperatura corporal y del gasto energético de reposo, reducción de los niveles de citoquinas inflamatorias y aumento modesto del nivel de cortisol, con disminución de la inflamación sistémica; protección contra el deterioro de la función inmunitaria asociado con el envejecimiento e incremento de la expresión de factores neurotróficos.

En relación al envejecimiento, la restricción en la ingestión de calorías afecta simultáneamente múltiples

procesos implicados en el envejecimiento, como mejoría de los procesos de reparación del ADN, aumento de la depuración de proteínas celulares dañadas y lípidos oxidados. Asimismo se promueve la reducción de la glucación de proteínas y de la formación de PFGA (acumulación de productos finales de la glucación avanzada (PFGA), y del entrecruzamiento del colágeno. Muchos de los efectos de la restricción calórica están mediados por la regulación de la expresión de genes de importante significado en la reparación celular y supervivencia, resistencia al estrés y protección contra el daño oxidativo, y de otros genes implicados en la inflamación (20, 21).

## 7. RESTRICCIÓN CALÓRICA Y ENVEJECIMIENTO EN SERES HUMANOS

Estudios epidemiológicos sugieren que la restricción calórica puede tener efectos beneficiosos sobre los factores implicados en la patogenia del envejecimiento primario y secundario en seres humanos.

Recientemente se han publicado los datos de varios estudios realizados en miembros de la “Sociedad de Restricción Calórica”; un grupo que practica esta restricción de forma voluntaria, con la creencia de que con ello prolongarán sus vidas. ¿Por qué envejecemos? ¿Cuáles son los datos conocidos hasta ahora del envejecimiento?: a).- Estrés Oxidativo; b).- Alteración de las mitocondrias; c).- Oxidación de macromoléculas (deterioro); d).- Lesiones al DNA (inestabilidad genética y alteraciones epigenéticas); e).- Glicación de proteínas (acúmulo de AGE); f).- Lipoperoxidación de membranas; g).- Acortamiento de telómeros en células replicativas (17, 22, 23).

El grupo experimental de restricción calórica estaba formado por personas de ambos sexos con un índice de masa corporal (IMC) medio de 19,6 kg/m<sup>2</sup> que ingirió un

promedio de 1800 kcal (30 % menos que lo habitual) procedentes de alimentos ricos en nutrientes como vegetales, frutas, nueces, lácteos, clara de huevo, trigo y proteínas de soja durante un promedio de 6,5 años. En comparación con los controles que consumieron una dieta occidental típica. Este grupo mostró menor porcentaje de grasa corporal, menor presión arterial, mejoría del perfil lipídico, aumento de la sensibilidad a la insulina (SI), disminución de marcadores inflamatorios, de factores de crecimiento y de T3, y función diastólica del ventrículo izquierdo similar a personas 16 años más jóvenes.

En varios estudios aleatorios se ha evaluado el efecto de la restricción calórica sobre variables relacionadas con el envejecimiento en adultos no obesos. En un estudio se observó que un 25 % de reducción del aporte calórico durante 6 meses redujo la grasa visceral, la resistencia a la insulina, la temperatura corporal y los niveles de un marcador de estrés oxidativo. Otro estudio, además, mostró que la restricción calórica redujo la masa ósea así como la masa muscular y fuerza en las extremidades inferiores.

## 8. RESTRICCIÓN CALÓRICA EXCESIVA

La restricción excesiva es la disminución del aporte calórico hasta un nivel que acarrea efectos nocivos sobre la salud, como anemia, detrimento muscular, déficit neurológico, edema en miembros inferiores, debilidad, mareos, depresión e irritabilidad. El sujeto llega a convertirse en un paciente con anorexia nerviosa (opuesto a la bulimia), y presenta además alteración de la regulación de la temperatura corporal, trastornos cutáneos, óseos, cardiovasculares, sanguíneos, pulmonares, del sistema inmunitario y reproductor.

Se ha demostrado que la reducción de un 45 % del aporte energético normal durante 24 semanas es nociva en hombres delgados. Un parámetro para evaluar la seguridad de la restricción calórica es el IMC: un IMC inferior a un 18,5 kg/m<sup>2</sup> se asocia a un aumento de la tasa de mortalidad en adultos y un IMC de 13 kg/m<sup>2</sup> en hombres y de 11 kg/m<sup>2</sup> en mujeres se asocia a posible muerte por inanición.

## 9. GENES, SIRTUÍNAS, EN RESTRICCIÓN CALÓRICA Y LONGEVIDAD

Se estima que los genes codificantes para proteínas son 20.344. De estos cada tipo celular utiliza por término medio unos 10.000 y son 400 tipos celulares diferentes. Por eso el organismo tiene en funcionamiento 4.000.000 de genes. Si además consideramos los que no codifican para proteínas, serían como los que codifican para RNA circulares 38.000, los lncRNA 30.000 y los mirRNA 2000. En esta categoría tendríamos unos 70.000. Luego están los nucleares, nucleolares, ribosómicos, transferentes. Si sumamos todos y asumimos el concepto de gen como fragmento de DNA que se transcribe a RNA, son alrededor de 100.000 (2, 10).

En el año 2000, Leonard Guarante, del Instituto de Tecnología de Massachusetts (MIT, Massachusetts, USA), descubrió que la restricción calórica o una dieta baja en calorías activaba la transcripción de un gen denominado SIR2 (Sirtuina2), con capacidad para retrasar el envejecimiento, tema que se estudia en otra lección del curso. Este gen, que codifica la proteína SIR2, se detectaba en mayor concentración en la mosca *Drosophila melanogaster*, cuando ésta se sometía a una dieta de menor aporte calórico. El gen SIR2 desempeña un papel central en el ciclo metabólico celular. A partir de este hallazgo, estos autores crearon una mosca mutante que sobre-expresaba el gen sirtuina, y descubrieron que con esta sobre-expresión, dichas moscas podían vivir hasta un 60 % más que las normales (control). Asimismo, demostraron que la Sir2 se relaciona con una mayor esperanza de vida, también en la levadura y el nematodo, y que en humanos existe un gen análogo SIRT2 (8, 9, 24).

Las sirtuínas son enzimas denominadas desacetilasas dependientes de NAD que conectan el metabolismo con la longevidad (Figuras 3 y 4).

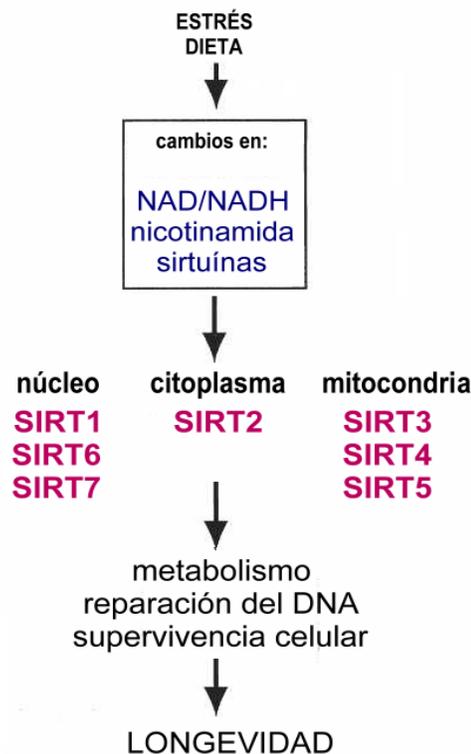
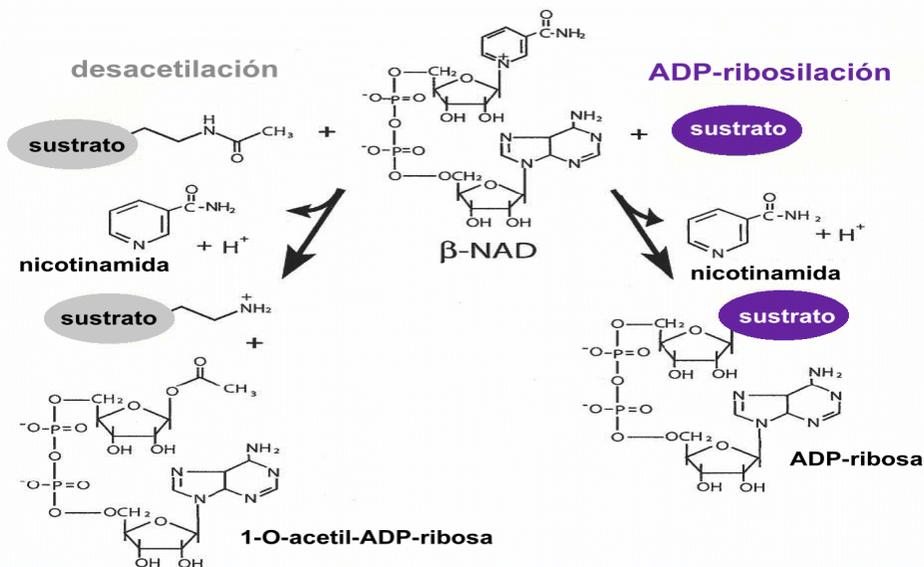


Figura 3. Regulación y función de sirtuínas. Cambios medioambientales, estrés y dieta regulan la actividad de sirtuínas alterando el cociente NAD/NADH, la concentración intracelular de nicotinamida y las de otras sirtuínas. Las sirtuínas de mamíferos (SIRT1–7) tienen diferentes significados y objetivos en el núcleo, citoplasma y mitocondrias, y pueden ejercer un impacto en el metabolismo, reparación del DNA o en la supervivencia celular.



**Figura 4. Reacciones de desacetilación y ADP-ribosilación por sirtuínas. Ambas reacciones implican la rotura del NAD para liberar nicotinamida.**

Como se ha comentado anteriormente, su presencia y mecanismo de acción se ha establecido en *Saccharomyces cerevisiae*, *Caenorhabditis elegans* y *Drosophila melanogaster*. Los mamíferos contienen siete homólogos de las SIR2 de levadura, SIRT1 a 7 (25, 26). Se ha demostrado el significado de estas sirtuínas como reguladoras del envejecimiento o longevidad, lo cual las convierte en potenciales objetivos farmacológicos para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con la edad, como enfermedades metabólicas y degenerativas, y con el Síndrome metabólico.

Las proteínas SIR (*silent, information regulator*) regulan la longevidad en muchos organismos. En levadura, una copia extra del gen SIR2 aumenta la expectativa de vida, mientras que la eliminación de dicho gen la acorta. La proteína SIR silencia la cromatina, aumenta la capacidad de reparación del DNA y se encuentra implicada en la fidelidad cromosómica durante la meiosis. La SIR promueve la longevidad al suprimir la formación de círculos extra-cromosómicos de rDNA (ERC) en levadura. El ortólogo del *Caenorhabditis elegans* SIR2.1 amplía también la expectativa de vida, aunque por un mecanismo distinto. La proteína SIR2.1 requiere de la proteína DAF-16 para inducir a una mayor longevidad en estas especies (8, 9, 24).

Cuando las células se someten a restricción calórica se inicia un proceso en cascada a través de la membrana celular. Una señal activa un gen llamado NAMPT, y la enzima resultante se acumula en el interior celular. La acumulación de NAMPT hace que también se acumule otra molécula pequeña llamada NAD (nicotinamin-adenín-dinucleótido; NAD). Esto es singular, pues la acumulación de NAD sólo ocurre dentro de las mitocondrias; en el citoplasma celular la concentración de NAD se desploma cuando faltan las calorías. Volviendo a las mitocondrias, la acumulación de NAD tiene un efecto posterior: aumenta la

actividad de otras dos proteínas mitocondriales producidas por los genes llamados SIRT3 y SIRT4.

El efecto combinado de lo que vamos tratando es claro. Las mitocondrias se robustecen, aumenta su producción de energía y el proceso de envejecimiento celular se entelcece: es como si la célula dijera: ¿morir? ¡en absoluto! Resumiendo, entonces, una dieta baja en calorías hace que aumenten las concentraciones de NAMPT, NAD, SIRT3 y SIRT4, y en su conjunto hace que la célula viva más tiempo y con más energía. De inmediato surge la idea siguiente: ¿qué ocurriría al inducir, a nivel molecular, y se incrementasen las concentraciones de NAD, SIRT3 y SIRT4, sin necesidad de hacer dieta? Esto señala de nuevo la importancia significativa y la necesidad de la investigación para el tratamiento y curación de la enfermedad. La regulación fisiológica por SIRT1 en mamíferos es un hecho. La SIRT1 regula la supervivencia de las neuronas, la gluconeogénesis, la lipólisis, la supervivencia de las células beta de secreción de insulina al interactuar con una serie de proteínas (27).

La activación de AMPK durante la restricción de aporte de glucosa induce la activación de SIRT1 y bloquea la inducción del programa biogénico, tema que se trata en otra lección del curso. Sin embargo, la activación de SIRT1 por AMPK puede también traducirse en la regulación de otros objetivos de la regulación por SIRT1, tales como p53, el coactivador del receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PGC-1β), o la familia FOXO de factores de transcripción, lo que conduce a una plétora de posibles efectos que quizás van más allá de la regulación de la biogénesis.

## 10. RESTRICCIÓN CALÓRICA Y PREVENCIÓN DE PATOLOGÍAS

### 10.1. Hábito y ritmo circadiano

a) Metabolitos del triptófano en restricción calórica

Numerosos obesos presentan cierto desfase entre sus niveles hormonales durante el ritmo día-noche, del ciclo o ritmo circadiano. Un ejemplo es la elevada concentración de serotonina cerebral que aparece en sangre al despertar y que induce a saciedad. La serotonina es metabolito del

aminoácido esencial triptófano. Y precisamente muchos obesos presentan al amanecer niveles elevados de serotonina, cuyo metabolito es la melatonina, ambas relacionadas con el sueño y la última como medicamento (Figura 5).

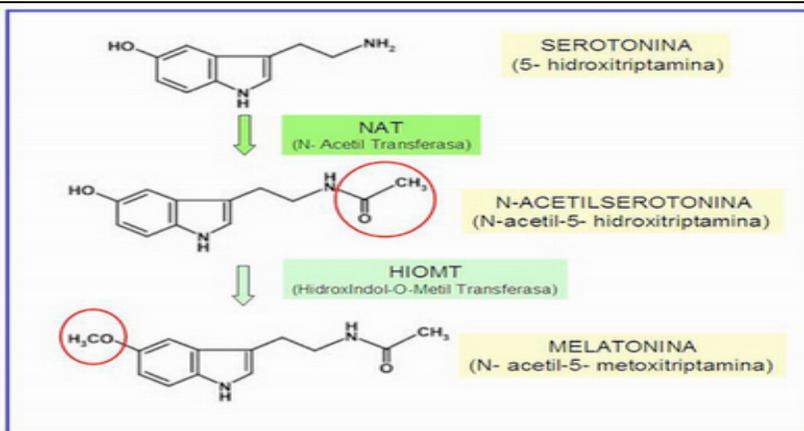


Figura 5. Algunos metabolitos del triptófano de interés metabólico.

Niveles altos de serotonina ocasionan desgana y rechazo por el desayuno. Por otra parte, en numerosos obesos al atardecer acaecen descensos de serotonina, que incrementan el apetito que provoca impulsos adictivos a ingerir alimento. En casos frecuentes los obesos se inclinan hacia harinas, pan con mermelada, dulces y chocolates. Estas bruscas oscilaciones de serotonina cerebral y sanguínea promueven en los obesos la modificación de su horario de comidas. Una tendencia a comer más por la noche, antes de dormir, que durante el desayuno, antes de trabajar y gasto energético, es la llamada “dieta invertida”.

#### b) Ritmo circadiano y hormonas

Al aplicar la restricción calórica deben vencerse los hábitos si es que son inversos a los ritmos hormonales, ritmo circadiano normal día-noche. El horario de ingestión de alimentos: desayuno-comida-cena, deben coincidir con ambos: con el ritmo circadiano día-noche, con el nivel hormonas que gobiernan un cuerpo normal y con el horario de su actividad física o de trabajo. La desregulación lleva consigo a obesidad. La falta o escaso desayuno y una cena abundante favorecen la obesidad. Algunos obesos no desayunan, mientras que otros hacen un desayuno carente de proteínas.

Es importante conocer el metabolismo y gasto en calorías. Aún en el caso de una persona con peso normal y gasto energético equilibrado, cuando falta del desayuno o se trata de un desayuno muy escaso, durante su actividad física se produce un gasto y bajada de los niveles de glucosa en sangre que detecta el cerebro. La falta de glucosa sanguínea y, por tanto, cerebral merma las facultades del cerebro, que se nutre de glucosa.

Con ausencia de desayuno se inicia así un consumo o destrucción de proteínas musculares, articulares del colágeno, de la piel y de los ligamentos. Estos se transforman en aminoácidos y abandonan los tejidos, como todos ustedes saben, para ser convertidos en glucosa en el

hígado y en las mitocondrias, a través de la glucólisis y del ciclo de Krebs antes mencionado (Figura 1), restaurándose nuevamente los niveles de glucosa en sangre y en cerebro. Esta patología general y concretamente dérmica se traduce en algunos ancianos, aunque no obesos, en padecer picores, escozores en la piel, que proceden de las toxinas de sus músculos y tendones.

#### c) Ritmo circadiano y cortisol

En ese contexto, el cortisol (Figura 6) es una de las hormonas que incide en la transformación de proteínas en energía, y determina que a lo largo de la mañana las proteínas sean utilizadas para mantener estables los niveles de glucosa sanguínea. Esta situación ocasiona dolores musculares y articulares; así como una debilidad generalizada. La piel pierde el colágeno, adelgaza, reduce su turgencia y se dañan sus siete capas celulares de varios orígenes embrionarios.

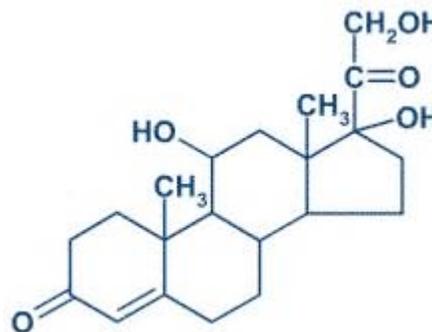


Figura 6. Estructura molecular del cortisol.

El cerebro pone en marcha un sistema de ahorro que permite bajar el gasto calórico alimentario como mecanismo para sobrevivir sin comer. De esto resulta que si en una caminata precedida por el desayuno gastamos unas 100 kcal, al faltar el desayuno las cubrirá con las propias reservas. Los investigadores cuantifican la intensidad de la actividad física en una unidad de medida

denominada MET, como equivalente metabólico. Un MET equivale al número de calorías que un cuerpo consume en la unidad de tiempo mientras está en reposo. Los alimentos suelen venir expresados en calorías y valores de “cantidades diarias orientativas, CDO” de un adulto (2000 kcal). Las necesidades nutricionales varían según la edad, sexo, genética, actividad física e intelectual y otros factores.

#### d) Ritmo circadiano y hormona de crecimiento

Los ritmos circadianos que dirigen nuestros ritmos hormonales determinan que, al caer la noche, se eleve la hormona de crecimiento (HGH) que utiliza nuestra grasa de reserva como combustible. Una cena abundante acompañada de nula actividad impide la movilización de grasa. Al anochecer se inicia el ascenso de la HGH y de su acción lipolítica (además de otras hormonas lipolíticas como epinefrina, norepinefrina, ghrelina, testosterona y cortisol). La GH es una hormona peptídica que estimula el crecimiento, reproducción celular y la regeneración en humanos y otros animales. Esta hormona de 191 aminoácidos, monocatenaria sintetizada, almacenada y secretada por las células somatotropas dentro de las alas laterales de la adenohipófisis, es la que utiliza la grasa de reserva como combustible y la responsable de la pérdida de peso o del adelgazamiento que ocurre durante el sueño nocturno. Sin embargo, una ingestión excesiva de alimento utiliza ese aporte antes que los depósitos de grasa corporales.

Se calcula que una persona adelgaza entre 500 y 800 gramos durante el sueño nocturno, pero durante el día aumenta de peso. Por ello se deben evitar el exceso de harinas y féculas y la sobrealimentación justamente en la noche, cuando la HGH comienza su ascenso. En caso contrario esa noche no se adelgazará y amanecerá con más grasa y peso que la noche anterior. La hormona HGH, además de movilizar las grasas, también activa el sistema inmunológico promoviendo que los glóbulos blancos ataquen a las bacterias y a las células malignas con lo que facilita la formación de anticuerpos.

#### e) Restricción calórica y diabetes

Durante la noche, en ayuno, los niveles de insulina son bajos, sin embargo, al iniciar la digestión por toma de alimentos, aparecen en sangre dos picos de secreción de insulina, correspondientes a la de reserva de las células beta, de los islotes de Langerhans del páncreas, y el debido a la nueva síntesis, provocado por la ingestión de alimentos y elevación del nivel de glucosa en sangre procedente de la glucólisis.

La restricción calórica es importante en la obesidad, por ser esta un claro factor de riesgo que interviene en el desarrollo de la diabetes tipo 2. Por ello se aconseja la RC en las personas obesas para evitar heredar otras patologías (28, 29).

#### f) Otros datos de interés

Se dispone de datos experimentales sobre la interrelación de la obesidad y la periodontitis, ambas

envuelven un estado hiperinflamatorio y un metabolismo lipídico aberrante prevalente en la obesidad, así como resistencia a la insulina, con pérdida de tejido de soporte periodontal (29).

Los adipocitos secretan adipoquinas importantes en el control del apetito y peso corporal. Una de estas citoquinas es la leptina, deriva de la raíz griega *leptos* que significa delgado, lo que se debe a su evidente función en el control del peso corporal a través de la regulación del apetito y la termogénesis. Además de hormona de la delgadez, es protectora frente a la obesidad e implicada en el síndrome metabólico y en la periodontitis, considerada esta última como la sexta complicación de la diabetes. Los adipocitos segregan también otras citoquinas, como la adiponectina y la resistina; la primera presenta bajos niveles en las patologías mencionadas, mientras que la segunda, la resistina, es proinflamatoria y está asociada en la resistencia a la insulina. Sin embargo, algunos investigadores señalan que el mediador más importante asociado con la obesidad y la resistencia a la insulina es el TNF- $\alpha$ , expresado mayoritariamente en tejido adiposo de obesos. Tanto el TNF- $\alpha$  como el IL-6 son secretados por los adipocitos, dificultan la señalización intracelular, inducen la resistencia a la insulina y estimulan la producción hepática de proteína C reactiva.

Por tanto concluimos señalando que la RC debería ser un hábito muy positivo para disminuir el peso corporal y prevenir frente a enfermedades y patologías varias, como las entidades del síndrome metabólico. Con ello se lograría longevidad activa y mejor calidad de vida.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. Bishop KS, Ferguson LR. The interaction between epigenetics, nutrition and the development of cancer. *Nutrients* 2015; 7, 922-947.
2. De la Osada J (2016). Como consigue nuestra dieta que seamos lo que somos. Academia de Farmacia Reino de Aragón. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza (ed). 2016; Cometa S.A. 17-39.
3. Santos Ruiz A, Cascales M. Restricción calórica y expectativa de vida. En: *Alimentos y Salud*, B Sanz (ed.) Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid. 2000; pp 413-453.
4. Cascales Angosto M. La naturaleza del envejecimiento. En: *Envejecimiento y Cultura* (Eds P García Barreno y A Portera Sánchez) Instituto de España 2001; 173-224.
5. Qin W, Chachich M, Lane M, et al. Calorie restriction attenuates Alzheimer's disease type brain amyloidosis in Squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *J Alzheimers Dis.* 2006; 10 (4), 417-422.
6. Kregel U, Törnroth-Horsefield S. Coping with oxidative stress: A crystal structure helps to explain how cells detoxify. *Science* 2015; 347, 125-126.
7. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ et al. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 305(5682), 390-2.

8. Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging and calorie restriction. *Genes & Dev* 2008; 20, 2913-2921.
9. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature* 2003; 425 (6954), 191-196.
10. Abente EJ, Subramanian M, Kamachandran V et al. MicroRNAs in obesity-associated disorders. *Arch Biochem Biophys* Doi, 2015; 10.1016/09.018.
11. Yang J, Hirschi KD, Farmer LM. Dietary RNAs: New stories regarding oral delivery. *Nutrients*. 2015; 7, 3184-3199.
12. Panowski SH, Wolff S, Aguilaniu H et al. PHA-4/Foxa mediates diet-restriction-induced longevity of *C. elegans*. *Nature*. 2007; 447, 550-555.
13. McCay CM, Crowell MF. Prolonging the life span. *Sci Month*. 1935; 39, 405-414.
14. McCay CM, Crowell MF, Maynard LA. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. *J Nutr*. 1935; 10, 63-79.
15. Walford R, Weindruch R. Resumen del libro: Retrasando el envejecimiento y la enfermedad mediante la restricción de la dieta. (The retardation of aging and disease by dietary restriction. Springfield, Ill, U.S.A. 1988; 339-397. ISBN: 0-398-05496-7.
16. Baulieu EE, Thomas G, Legrain S, Lahlou N, Roger M, Debuire B, Faucounau V, Girard L, Hervy MP, Latour F, Leaud MC, Mokrane A, Pitti-Ferrandi H, Trivalle C, de Lacharrière O, Nouveau S, Rakoto-Arison B, Souberbielle JC, Raison J, Le Bouc Y, Raynaud A, Girerd X & Forette F., 2000. Dehydroepiandrosterone (DHEA), DHEA sulfate, and aging: Contribution of the DHEAge Study to a sociobiomedical issue. *PNAS*, 97(8), 4279-4284.
17. Blasco M.A.Salomone M.G. Morir joven, a los 140. 2016; (256 pág) Editorial Paidós Ibérica ISBN: 9788449332067.
18. Leung JH, et al. Division of labor in transhydrogenase by alternating proton translocation and hydride transfer. *Science* 2015; 347 (6218), 178-181.
19. Milne Jill C, Denu JM. The Sirtuin family: therapeutic targets to treat diseases of aging. *Curr Opin Chem Biol*. 2008; 12, 1-17.
20. Sinclair DA, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles-a cause of aging in yeast. *Cell*. 1997; 26, 91(7), 1033-1042.
21. Uhlen M, Fagerberg L, Hallstrom BM et al. Proteomics. Tissue-based map of the human proteome. *Science*. 2015; 347, 12604-19.
22. Baur JA, et al (2006). Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature* 2006; 444 (7117), 337-42.
23. Heydary AR, Unnikrishnan A, Lucente LV et al. Caloric restriction and genomic stability. *Nucleic Acid Res* 2007; 35, 7485-7496.
24. Canto C, Auwerx J. Glucose restriction: Longevity SIRTainly, but without building muscle? *Developmental cell* 2008; 14, 642-644.
25. Picard F, Kurtev M, Chung N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*. 2004; 429 (6993), 771-776.
26. Rogina B y Helfand SL. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to caloric restriction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101, 15998-16003.
27. Wood JG, Rogina B, Lavu S et al. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. *Nature* 430 (7000), 686-689, Erratum in *Nature* (2004); 431(7004), 107.
28. Marchel E et al. Periodontal disease: the influence of metabolic syndrome. *Nutrition & Metabolism*. 2012; 9 (1), 88.
29. Zimmermann G S, et al. Local and circulating levels of adipocytokines in obese and normal weight individuals with chronic periodontitis *Journal Periodontology*. 2013; 84 (5) 624.