

Gerontología molecular: hacia un envejecimiento saludable

Jorge Iván Castillo-Quan* y Kerri J. Kinghorn

*Institute of Healthy Ageing and Research Department of Genetics, Evolution and Environment, University College London, Londres, Reino Unido;
Department of Molecular Neuroscience, Institute of Neurology, University College London, Londres, Reino Unido*

Resumen

*El estudio del envejecimiento ha estado relegado durante mucho tiempo a enfoques estadísticos, psicológicos y socioeconómicos. Hoy el envejecimiento es una de las áreas de estudio biológico más atractivas y prósperas. Este cambio se dio cuando manipulaciones de un solo gen mostraron que el envejecimiento es un proceso biológico dinámico y, sobre todo, plástico. Hoy en día la literatura biomédica que aborda la biología del envejecimiento reporta incesantemente cómo las manipulaciones genéticas pueden prolongar la vida de organismos unicelulares como la levadura e invertebrados como el gusano *C. elegans* y la mosca *Drosophila*. Algunas de estas intervenciones han sido comprobadas en mamíferos, lo cual sugiere que los procesos encontrados en organismos invertebrados son evolutivamente relevantes para los humanos.*

Las manipulaciones más exitosas están ligadas a vías de señalización responsables de la detención de nutrientes, lo cual sugiere que podrían constituir los mecanismos moleculares mediante los cuales la restricción dietética (RD) ejerce su amplio espectro de beneficios. La validación de estas intervenciones en humanos será compleja, por lo que los biogerontólogos han optado por escanear el genoma de centenarios (personas de 100 años o más) en busca de aquellas variantes o genes que contribuyen a su longevidad y envejecimiento saludable.

PALABRAS CLAVE: Autofagia. Blanco de rapamicina (target of rapamycin [TOR]). Centenarios. Cabeza de horquilla (FOXO). Envejecimiento. Insulina. Traducción.

Abstract

*For many years aging research was confined to statistics, psychology, and socioeconomic aspects of old age. However, today the study of aging is one of the most attractive and prosperous fields in biology. This change followed on from observations that single gene mutations can modulate the aging process, demonstrating the dynamic and plastic nature of the pathways involved. The field of aging is continually being fuelled by the discovery of new genes and pathways that extend lifespan when manipulated in organisms ranging from unicellular yeast to the more complex round worm *C. elegans* and the fruit fly *Drosophila melanogaster*. Such interventions have also been successful in mammals, proving the principle that discoveries in invertebrates can be evolutionarily relevant to humans.*

The most successful and evolutionary conserved interventions are those related to nutrient sensing pathways, the effector pathways upon which dietary restriction operates to promote health and longevity. To validate the existence of genes that modify the aging process in humans, biogerontologists have opted for a genome-wide approach to studying centenarians, those fortunate to live beyond 100 years of age. By studying these individuals, they hope to unravel the genetic signatures that promote healthy ageing and long life. (Gac Med Mex. 2013;149:680-5)

Corresponding autor: Jorge Iván Castillo-Quan, ji.castillo-quan.09@ucl.ac.uk

KEY WORDS: Ageing. Autophagy. Centenarian. Forkhead Box O (FOXO). Insulin. Target of rapamycin (TOR). Translation.

Correspondencia:

*Jorge Iván Castillo-Quan
Darwin Building, Gower Street
London WC1E 6BT, United Kingdom
E-mail: ji.castillo-quan.09@ucl.ac.uk

Fecha de recepción: 29-05-2013

Fecha de aceptación: 07-11-2013

Introducción

Poco más de siete billones de personas habitan el mundo. Según la Organización de las Naciones Unidas (ONU), actualmente existen 800 millones de personas adultas mayores (≥ 65 años), y se espera que para el año 2050 este número aumente a dos billones. Se considera que el principal factor que ha favorecido estas cifras es el crecimiento sostenido de la esperanza de vida. La ONU pronostica que el mundo estará poblado por 9.3 billones de personas en 2050 y por 10.1 en el año 2100. De mayor importancia es el hecho de que el 97% de este crecimiento poblacional ocurrirá, según se estima, en las regiones menos desarrolladas del mundo, y el 38%, en los países con alto índice de pobreza. Hay indicadores que apuntan a que un gran número de recién nacidos en países industrializados después del año 2000 celebrarán los 100 años de vida¹. En México el número de personas mayores de 60 años va en aumento. En 2020 una octava parte de la población, poco más de 15 millones de mexicanos, serán adultos mayores, y para 2050 este número se duplicará y uno de cada cuatro mexicanos se ubicará en este grupo de edad².

Este aumento de la esperanza de vida está directamente relacionado con el incremento de las enfermedades asociadas al envejecimiento, como la diabetes, la enfermedad de Alzheimer, el cáncer y la enfermedad de Parkinson. El mayor factor de riesgo y común denominador de estas enfermedades es el envejecimiento^{3,4}. Se considera que el entendimiento de la biología del envejecimiento ayudará notablemente a dilucidar la patogenia y tratamiento de estas enfermedades⁵. Sin embargo, primero será necesario determinar los mecanismos moleculares del proceso de envejecimiento.

¿Qué causa el envejecimiento? La respuesta a esta pregunta ha generado varias teorías que pretenden explicar el origen biológico y evolutivo de este proceso. Las tres principales son la teoría de la pleiotropía antagónica (genes benéficos durante el desarrollo se vuelven perjudiciales posteriormente en la vejez), la teoría del soma desechable (el gasto energético del organismo se deposita en la reproducción o el mantenimiento de las células somáticas) y la teoría del daño oxidativo y los radicales libres. Ninguna de estas teorías explica necesariamente el envejecimiento de forma contundente, y lo más probable es que sea una mezcla de ellas la que se aproxime a la realidad. La teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo es la que ha recibido más atención. Esta teoría supone que la

acumulación del daño causado por la respiración oxidativa y la producción, y acumulación, de radicales libres determinan el envejecimiento. El soporte científico de esta teoría se funda en observaciones fortuitas que han determinado que la sobreexpresión de enzimas antioxidantes (o la administración de agentes antioxidantes) puede prolongar la vida de diversos organismos⁶. Sin embargo, algunos reportes también han mostrado que esta prolongación de la vida puede existir sin reducción de daño molecular, lo cual desliga el envejecimiento de la acumulación de daño oxidativo⁷. Por otra parte, una teoría emergente es la de la hiperfunción, que sostiene que programas útiles durante la etapa de desarrollo continúan su curso aun cuando su función no es necesaria, lo cual favorece el envejecimiento y las enfermedades asociadas. Por ejemplo, los programas de crecimiento celular necesarios durante el desarrollo continúan operando (se usa la analogía del grifo de agua programado para llenar la tina; este programa es necesario cuando la tina está vacía, pero si no existe un programa para detenerlo, el agua continuará llenando la tina hasta desbordarla), lo cual causa crecimiento (hiperplasia y cáncer) y acumulación de biomasa (obesidad, dislipidemia y aterosclerosis) o de proteínas mal conformadas (neurodegeneración por proteinopatía)^{6,8}. Esta teoría explica por qué la disminución de las vías de señalización responsables del crecimiento tiene efectos favorables para el envejecimiento saludable.

En esta breve revisión abordaremos principalmente los mecanismos moleculares del envejecimiento que se consideran conservados en evolución, es decir, aquellos que han demostrado tener un efecto tanto en organismos invertebrados como en mamíferos. Es importante destacar que los mecanismos que se mencionarán han demostrado consistentemente tener efectos para prolongar el tiempo de vida (fundamental en biología del envejecimiento) y mejorar varios fenotipos asociados al envejecimiento (y no solamente afectar parámetros de enfermedad), por lo que son considerados verdaderos mecanismos de la biología del envejecimiento.

Nutrición y envejecimiento

La intervención más efectiva para lograr un envejecimiento saludable es la RD, que consiste en la disminución de la ingesta de alimentos sin causar malnutrición. La RD ha sido comprobada evolutivamente, ya que distintos protocolos pueden prolongar la vida de organismos unicelulares como la levadura o de mamíferos e incluso primates. Los beneficios en seres humanos se

han documentado en distintos parámetros metabólicos y bioquímicos^{5,9}. Sin embargo, no se han realizado estudios experimentales prospectivos controlados. Una de las dificultades de la RD es la adherencia. Históricamente las medidas dietéticas han formado parte de la terapia no farmacológica de varias enfermedades, mostrando que su aplicabilidad y significancia clínica son menores que las de las medidas farmacológicas.

Se han propuesto varios mecanismos moleculares para explicar los efectos de la RD, incluidas la estimulación de ciertos factores de transcripción que regulan la síntesis de genes encargados de la detoxificación y mediadores de la respuesta a factores estresantes (como la respuesta a la hipoxia o la biogénesis de las mitocondrias), la reducción de la síntesis de proteínas (alterando directa o indirectamente la maquinaria de traducción) y la estimulación de las maquinarias encargadas del metabolismo de proteínas (proteosoma y autofagia), entre otros. Sin embargo, todos estos mecanismos convergen en las vías de señalización que regulan el crecimiento y detectan el estado nutricional de la célula^{6,9}.

Vía de señalización de la insulina/factor de crecimiento similar a la insulina (insulin-like growth factor [IGF-1])

Los primeros estudios que demostraron la plasticidad del proceso de envejecimiento se condujeron en el gusano *Caenorhabditis elegans*¹⁰ y determinaron que las mutaciones que inactivan las proteínas de la vía de señalización de insulina/similar a insulina (*insulin/insulin-like signaling* [IIS]; «similar a insulina» se refiere a la señalización mediada por los IGF) alargaban la vida de *C. elegans*^{9,10}. Más tarde, estudios en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* determinaron que los efectos observados en *C. elegans* estaban conservados en evolución¹¹. Los estudios en estos organismos invertebrados iniciaron la era moderna de la biología del envejecimiento, pero su aplicabilidad en mamíferos aún aguardaba confirmación y despertaba grandes especulaciones. La inactivación del receptor de insulina en mamíferos está directamente relacionada con la presencia de diabetes *mellitus*. Sin embargo, esta misma intervención en *C. elegans* o *Drosophila*, o la ausencia del único sustrato de receptor de insulina (*insulin receptor substrate* [IRS]) en *Drosophila* prolongan la vida saludable de estos organismos. En mamíferos, existe mayor diversificación en la vía de señalización IIS; los mamíferos contamos, por ejemplo, con más de un IRS, y, aun cuando esta diversificación no es completamente entendida, los estudios *knock-out*

(KO) han determinado la variabilidad de efectos. Los ratones KO para IRS1 no desarrollan diabetes, pero los ratones KO para IRS2 sí. Al realizar estudios de longevidad, se ha documentado que los ratones KO para IRS1 tienen una vida prolongada, al contrario que los ratones KO para IRS2, que, además de desarrollar diabetes, muestran una reducción del tiempo de vida. Importantemente, los ratones que viven durante más tiempo muestran un aumento de los parámetros de salud, y no una mera prolongación del tiempo de vida decrepita al final de esta¹². Estos estudios demuestran que los efectos prolongevidad de la reducción de la vía de señalización de insulina están evolutivamente conservados, pero en los mamíferos la inactivación debe ser selectiva a componentes específicos. Esta selectividad es también real a nivel de tejidos. Los ratones KO del receptor de insulina específicamente en el tejido adiposo blanco son resistentes a la obesidad y la diabetes, y viven durante más tiempo¹³. Esto es contrario a otros tejidos como el cerebro o el hígado, que desarrollan una enfermedad similar a Alzheimer o alteraciones glucometabólicas, respectivamente.

Los IGF activan, al igual que la vía de la insulina, la fosoinositol-3-cinasa¹⁴. En invertebrados solo existe una vía de señalización; por ejemplo, en *Drosophila* solo existe un receptor (el de insulina, para los ocho ligandos similares a insulina que funcionarían como insulina e IGF) que lleva a cabo todas las funciones metabólicas, de crecimiento, etc.^{9,15}. Por ello, no resulta sorprendente que los ratones que carecen del receptor específico para IGF sean pequeños y tengan un periodo de vida prolongado (extensión que varía entre el 30 y el 65%), en comparación con los controles. Aún se desconoce el porqué de estos efectos en longevidad, pero actualmente se considera que la clave podría estar en el amplio espectro de beneficios que acompañan al prolongado tiempo de vida. Los ratones con alteraciones en la señalización por la IGF1 muestran niveles reducidos de insulina, así como mayor sensibilidad a ella, adiponectina circulante elevada y mayor oxidación- β de ácidos grasos. Esto hace que estos ratones sean resistentes a alteraciones metabólicas como la diabetes y la obesidad, aun cuando tienen mayor acumulación de grasa subcutánea. Por ello, entender los mecanismos que llevan a la prolongación de la vida y la protección contra enfermedades asociadas a la edad es una prioridad de este campo^{14,16}.

Un blanco que se considera prominente para el efecto de la reducción de IIS es la activación del factor de transcripción FOXO. Elegantes experimentos de epistasia en *C. elegans* y *Drosophila* han demostrado

que el factor de transcripción FOXO (en humanos FOXO3) es directamente responsable^{9,10}. FOXO es inactivado en respuesta a insulina, y la regulación a la baja de la vía de señalización permite la activación de FOXO, que trasloca al núcleo e inicia la transcripción de los genes blanco, que son los potenciales responsables del efecto prolongevidad. En *Drosophila* la expresión de una versión dominante negativa del receptor de insulina prolonga significativamente la vida de las moscas, pero cuando este experimento se realiza en moscas que carecen de FOXO, el efecto de longevidad es abolido¹⁷. Estos experimentos indican que la inactivación de la vía de señalización de insulina requiere del factor de transcripción FOXO. Aún más, la sola sobreexpresión de FOXO en el intestino y el tejido adiposo de las moscas es capaz de prolongar la vida¹⁸. Es importante destacar que los efectos de la sobreexpresión de FOXO no han sido documentados en mamíferos; sin embargo, FOXO3 se ha reportado como un factor genético asociado a vejez extrema.

TOR: regulación de traducción y autofagia

Adicional a la vía de señalización IIS que responde principalmente a carbohidratos, la vía de señalización que responde a aminoácidos es el TOR. En varios organismos se ha documentado que, más que los carbohidratos, las proteínas y en específicos los aminoácidos son la limitante principal para la longevidad⁶. El TOR es activado por aminoácidos; mutaciones que inactivan su señalización prolongan la vida saludable de la levadura, los gusanos, las moscas y, más recientemente, los ratones^{9,19,20}.

El TOR regula directamente diversos procesos, pero específicamente la traducción y autofagia. La disponibilidad de aminoácidos estimula la traducción de proteínas e inhibe la autofagia; por lo tanto, cuando el TOR es inhibido, la traducción disminuye y la autofagia es activada, principalmente como fuente de aporte nutricional¹⁹. Aún no se entiende cómo la inhibición de la traducción conduce a la prolongación del tiempo de vida, pero las manipulaciones directas de la maquinaria de traducción pueden prolongar la vida de la levadura y de *C. elegans*⁶. Por otro lado, la estimulación genética de autofagia en *Drosophila* puede prolongar la vida, aun cuando se desconoce el mecanismo molecular²¹. En *C. elegans* se ha mostrado que los beneficios de la RD pueden ser abolidos si se inhibe la autofagia²².

Uno de los mayores atractivos de la inactivación del TOR es que existe un fármaco que puede inhibir sus funciones, lo cual representa un gran beneficio para el uso humano. Rapamicina es un fármaco aprobado para consumo humano como inmunomodulador en el

trasplante renal¹⁹. Adicionalmente, cuando este fármaco es administrado a ratones controles, el tiempo de vida se prolonga incluso si el tratamiento empieza en la vida adulta avanzada²³. Las investigaciones en *Drosophila* han documentado que rapamicina también prolonga el tiempo de vida de las moscas y protege contra el prooxidante paraquat y el estrés por inanición. Este estudio reportó que los dos mecanismos necesarios para estos efectos son la estimulación de la autofagia y la reducción de la traducción²⁴. Estos resultados demuestran, en primera instancia, que las intervenciones genéticas para inhibir el TOR pueden prolongar la vida de diversos organismos, lo cual establece que estos mecanismos están conservados evolutivamente. Adicionalmente, estos efectos pueden ser recapitulados mediante la inhibición farmacológica con rapamicina.

Promesas y mecanismos no conservados en evolución

La teoría que explica que el envejecimiento se origina por la acumulación de radicales libres y estrés oxidativo está siendo abandonada paulatinamente, mientras las investigaciones reportan que se pueden desligar uno de otro^{6,8}. Los estudios recientes están evidenciando que cierto nivel de estrés oxidativo es no solamente necesario, sino también beneficioso para prolongar el tiempo de vida. Esto se ha llamado «hormesis», ya que se refiere a un efecto bifásico o adaptativo por el que concentraciones bajas de ciertas moléculas tienen efectos positivos (mayor longevidad), mientras que al incrementar la dosis estas se vuelven deletéreas. Se cree que es un mecanismo conservado en evolución, ya que se ha correlacionado con el incremento del tiempo de vida incluso en ratones longevos⁶.

Al contrario que esta teoría, que ha carecido de fundamentos biológicos sólidos, el papel de las sirtuinas y el resveratrol gozó durante mucho tiempo de una notoriedad intocable en reportes de revistas del más alto impacto. Las sirtuinas son enzimas encargadas de la desacetilación Nicotinamida Adenina Dinucleótido-dependiente de histonas, con lo que afectan la expresión de ciertos genes²⁵. Los estudios en la levadura fueron los primeros que mostraron que la sobreexpresión de sirtuinas prolongaba el tiempo de vida; en el año 2001 estos resultados fueron replicados en *C. elegans* y, más tarde, en *Drosophila*. Aun cuando el efecto nunca ha sido demostrado en mamíferos, los estudios en invertebrados han sido suficientes para generar toda una nueva área de investigación. El campo de las sirtuinas infiltró totalmente los medios masivos de

comunicación cuando se reportó que el resveratrol, uno de los ingredientes activos del vino tinto, activaba directamente las sirtuinas y prolongaba el tiempo de vida. Muchos consideraron que las sirtuinas eran el elixir de la eterna juventud, pero su papel en el envejecimiento se está debatiendo. Un estudio multicéntrico en *C. elegans* y *Drosophila* demostró que los efectos reportados en estudios previos eran artefactos experimentales, e incluso aislaron una mutación que segregaba con el efecto de longevidad²⁶. Debido a la falta de estudios en mamíferos que demuestren los efectos de longevidad (y no de rescate ante enfermedades como la obesidad y el cáncer), el papel de las sirtuinas aún necesita ser esclarecido.

Otro campo que no goza de conservación en evolución en el estudio del envejecimiento (debido principalmente a que no puede ser estudiado en *Drosophila*) es el papel de los telómeros y la telomerasa. Desde que los telómeros y la telomerasa fueron descubiertos, su potencial como terapia antienvjecimiento ha sido constantemente debatido, aun cuando la disminución de los telómeros y la reducción de la actividad de la telomerasa se han asociado con fenotipos de envejecimiento. Esto se debe a que los incrementos de la actividad de la telomerasa se asocian con el cáncer. Estas especulaciones han sido resueltas por investigadores españoles que han sobreexpresado la transcriptasa reversa de la telomerasa y han mostrado que el tiempo de vida de los ratones puede ser incrementado incluso si el tratamiento es realizado de manera tardía (a los dos años de edad). De mayor importancia han sido los amplios efectos de salud, como mayor sensibilidad a la insulina, reducción de la osteoporosis y otros marcadores de envejecimiento, sin incrementar la incidencia de cáncer²⁷.

Los procesos que promueven el envejecimiento pueden ser manipulados a múltiples niveles. Ya hemos puesto de manifiesto que las alteraciones ambientales (en especial la RD) y las manipulaciones genéticas y farmacológicas pueden promover el tiempo de vida en diversos organismos. Debido a que estas intervenciones no solamente extienden el tiempo de vida, sino que también alargan el tiempo de vida saludable e incluso previenen la incidencia de enfermedades asociadas al envejecimiento, las repercusiones de estos hallazgos para la salud humana prometen ser inigualables. Por ello es relativamente entendible la atención que los reportes derivados de la investigación de la biología del envejecimiento reciben en los medios masivos de comunicación. Sin embargo, es importante destacar que, aun cuando estos reportes sean publicados en revistas de alto impacto, la replicación y validación de resultados

es importante, en especial cuando las observaciones se realizan en modelos invertebrados. Siempre será necesario comprobar la conservación de los efectos prolongados en evolución. Nuevos procesos moleculares están siendo descritos continuamente. Uno de los más interesantes es la regulación de la expresión genética a través de micro-ARN²⁸. Interesantemente, el mecanismo propuesto por el que la sobreexpresión de un micro-ARN (miR-34) promueve longevidad en *Drosophila* es mediante la regulación a la baja de programas responsables del desarrollo, lo cual apoya la teoría de la hiperfunción previamente mencionada. Será importante determinar el papel de los micro-ARN en el envejecimiento de modelos mamíferos, y consecuentemente en humanos.

Estudios del genoma completo de centenarios

La relevancia de los impresionantes hallazgos en invertebrados solo puede ser evaluada por los ojos de la evolución. Es extremadamente complicado obtener en humanos las demostraciones experimentales que soporten el papel de la señalización de la insulina y el TOR. Sin embargo, cada vez hay más gente extremadamente longeva (centenarios son personas mayores de 100 años) que conserva íntegra la mayoría de sus capacidades funcionales y, en muchos casos, libre de enfermedad mayor. Una estrategia para entender cómo estas personas llegan a estas edades y, en un buen porcentaje, libres de enfermedad es mediante estudios de asociación del genoma completo para determinar cuáles son las variantes genéticas que podrían estar contribuyendo a esta protección. Se considera que el 25% del envejecimiento cuenta con un componente genético, y estos estudios están determinando qué variantes genéticas son las responsables^{29,30}. Una variante que se ha asociado con el síndrome de fragilidad es la $\epsilon 4$ del gen de la apolipoproteína (apoE)³⁰. Este gen es uno de los factores de riesgo genético más importantes para la enfermedad de Alzheimer y la cardiovascular³. También han sido replicadas en varios estudios variantes en el gen *FOXO3A*; como ya se ha mencionado anteriormente, este es el factor de transcripción regulado por la vía de señalización de insulina. Otros factores importantes en el metabolismo del colesterol también se han reportado incrementados en centenarios³⁰. Aun cuando la relevancia de estos factores genéticos requiere mayor validación (tanto replicación a nivel epidemiológico como determinación de su relevancia biológica), parecen apuntar que, en efecto, existe una firma genética en centenarios que los hace diferentes al resto de la

población. Esto es relevante debido a que en muchos casos los centenarios no son buenos promotores de estilos de vida saludable (muchos fuman, no realizan ejercicio ni siguen dietas balanceadas).

Los investigadores involucrados en los estudios de asociación del genoma completo están avanzando hacia el uso de nuevas tecnologías genómicas. Ahora las investigaciones se dirigen a secuenciar totalmente el genoma de los centenarios³⁰. Se espera que esta estrategia genere más avances en la determinación de los factores genéticos que contribuyen a la longevidad y a una edad avanzada libre de enfermedad.

Conclusiones

El envejecimiento es un proceso biológico complejo y difícil de definir. Sin embargo, se caracteriza por la declinación de funciones, la acumulación de daño y la reducción de la capacidad reproductiva. Aun cuando su origen biológico o evolutivo no se entiende del todo, su estudio en modelos animales parece determinar que el daño molecular constituye más un factor adyuvante que etiológico. La teoría más novedosa propone que el envejecimiento surge como resultado de la prolongación de programas celulares útiles durante la etapa del desarrollo. La ausencia de frenos para estos programas conllevan a la hiperfunción (también puede manifestarse como atrofia en caso de programas que implican remoción, como sería el caso de la osteoporosis). Uno de los atractivos de esta teoría es que, además de ligar el envejecimiento con sus enfermedades asociadas, explica por qué las intervenciones orientadas a disminuir la señalización por vías que fomentan el crecimiento y la hipertrofia celular conllevan la prolongación de la vida de modelos animales, así como la prevención de enfermedades. La manipulación de estas vías de señalización también está ligada a la RD, la intervención ambiental más efectiva para retardar el envejecimiento y sus consecuencias.

Para determinar si las manipulaciones que han probado ser exitosas en modelos animales pueden tener consecuencias beneficiosas en humanos, los biogerontólogos han optado por escanear de manera cegada el genoma de personas centenarias. Los frutos de estas investigaciones aún están por determinarse.

Agradecimientos

Agradecemos las sugerencias de Yila de la Guardia, así como el apoyo del *Wellcome Trust* (KJK), *UCL Scholarships and UCL Institute of Healthy Ageing* (JICQ).

Bibliografía

1. Bloom DE. 7 Billion and Counting. *Science*. 2011;333(6042):562-9.
2. Góngora-Alfaro JL. La cafeína como un fármaco preventivo de la enfermedad de Parkinson: evidencias epidemiológicas y sustrato experimental. *Rev Neurol*. 2010;50(4):221-9.
3. Castillo-Quan JI, Perez-Osorio JM. Alzheimer's disease and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms: a potential nutrigenomic approach for Mexico. *Gac Med Mex*. 2009;146(2):147-50.
4. Castillo-Quan JI. Parkin' control: regulation of PGC-1 α through PARIS in Parkinson's disease. *Dis Model Mech*. 2011;4(4):427-9.
5. Bourzac K. Live long and prosper? *Nature*. 2012;492:S18-20.
6. Gems D, Partridge L. Genetics of longevity in model organisms: debates and paradigm shifts. *Annu Rev Physiol*. 2013;75:621-44.
7. Doonan R, McElwee JJ, Matthijsens F, et al. Against the oxidative damage theory of aging: superoxide dismutases protect against oxidative stress but have little or no effect on life span in *Caenorhabditis elegans*. *Genes Dev*. 2008;22(23):3236-41.
8. Gems D, De la Guardia Y. Alternative Perspectives on Aging in *Caenorhabditis elegans*: Reactive Oxygen Species or Hyperfunction? *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(3):321-9.
9. Fontana L, Partridge L, Longo VD. Extending healthy life span—from yeast to humans. *Science*. 2010;328(5976):321-6.
10. Kenyon C. The first long-lived mutants: discovery of the insulin/IGF-1 pathway for ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011;366(1561):9-16.
11. Clancy DJ, Gems D, Harshman LG, et al. Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. *Science*. 2001;292(5514):104-6.
12. Selman C, Lingard S, Choudhury AI, et al. Evidence for lifespan extension and delayed age-related biomarkers in insulin receptor substrate 1 null mice. *FASEB J*. 2008;22(3):807-18.
13. Blüher M, Kahn BB, Kahn CR. Extended longevity in mice lacking the insulin receptor in adipose tissue. *Science*. 2003;299(5606):572-4.
14. Bartke A, Sun LY, Longo V. Somatotrophic signaling: trade-offs between growth, reproductive development, and longevity. *Physiol Rev*. 2013;93(2):571-98.
15. Partridge L, Alic N, Bjedov I, Piper MDW. Ageing in *Drosophila*: the role of the insulin/Igf and TOR signalling network. *Exp Gerontol*. 2011;46(5):376-81.
16. Bartke A, Westbrook R. Metabolic characteristics of long-lived mice. *Front Genet*. 2012;3:288.
17. Slack C, Giannakou ME, Foley A, Goss M, Partridge L. dFOXO-independent effects of reduced insulin-like signaling in *Drosophila*. *Aging Cell*. 2011;10:735-48.
18. Giannakou ME, Goss M, Jünger MA, Hafen E, Leevers SJ, Partridge L. Long-lived *Drosophila* with overexpressed dFOXO in adult fat body. *Science*. 2004;305(5682):361.
19. Bjedov I, Partridge L. A longer and healthier life with TOR down-regulation: genetics and drugs. *Biochem Soc Trans*. 2011;39(2):460-5.
20. Lamming DW, Ye L, Katajisto P, et al. Rapamycin-induced insulin resistance is mediated by mTORC2 loss and uncoupled from longevity. *Science*. 2012;335(6076):1638-43.
21. Simonsen A, Cumming RC, Brech A, Isakson P, Schubert DR, Finley KD. Promoting basal levels of autophagy in the nervous system enhances longevity and oxidant resistance in adult *Drosophila*. *Autophagy*. 2008;4(2):176-84.
22. Hansen M, Chandra A, Mitic LL, Onken B, Driscoll M, Kenyon C. A role for autophagy in the extension of lifespan by dietary restriction in *C. elegans*. *PLoS Genet*. 2008;4(2):e24.
23. Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*. 2009;460(7253):392-5.
24. Bjedov I, Toivonen JM, Kerr F, et al. Mechanisms of life span extension by rapamycin in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Cell Metab*. 2010;11(1):35-46.
25. Lombard DB, Pletcher SD, Canto C, Auwerx J. Longevity hits a roadblock. *Nature*. 2011;477:410-1.
26. Burnett C, Valentini S, Cabreiro F, et al. Absence of effects of Sir2 overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila*. *Nature*. 2011;477(7365):482-5.
27. Bernardes de Jesus B, Vera E, Schneeberger K, et al. Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer. *EMBO Mol Med*. 2012;4(8):691-704.
28. Liu N, Landreh M, Cao K, et al. The microRNA miR-34 modulates ageing and neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature*. 2012;482(7386):519-23.
29. Barzilai N, Guarente L, Kirkwood TBL, Partridge L, Rando TA, Slagboom PE. The place of genetics in ageing research. *Nat Rev Genet*. 2012;13(8):589-94.
30. Eisenstein M. Great expectations. *Nature*. 2012;492:S6-8.