

Marcadores biológicos del envejecimiento*

A. Ruiz-Torres^a y G. Hofecker^b

^aInstituto Universitario de Investigación Gerontológico. Madrid. España.

^bPhysiologisches Institut. Veterinärmedizinische Universität Wien. Veterinärplatz 1. Viena. Austria.

En el último Congreso Europeo de Gerontología, celebrado recientemente en Barcelona, tuvimos la oportunidad de ver reunidos en nuestro país a un gran número de expertos de reconocido prestigio que aportaron sus conocimientos en múltiples áreas relacionadas con el envejecimiento.

Dada la imposibilidad de publicar todos los contenidos para la gran mayoría de profesionales interesados en los diferentes ámbitos de la Gerontología, desde el Comité de Redacción hemos solicitado la colaboración de aquellos autores que por su prestigio y el interés de la ponencia, hemos considerado más relevantes para los lectores. En esta tarea ha sido de inestimable ayuda la colaboración del Profesor Ribera Casado, tanto en la selección de autores como en la petición de colaboraciones.

Por invitación del Consejo Editorial presentamos en este número de la revista una revisión puntual de un tema que, siendo de tal importancia, motivó la celebración de un simposio. Por tanto, partiendo de lo que allí se presentó y discutió, este trabajo tiene como finalidad la puesta al día de conocimientos básicos en un campo esencial para la investigación del envejecimiento.

*Basado en los resultados del Simposio de la Sección Biológica sobre este tema en el V Congreso Europeo de la IAG, Barcelona 2003, en el que intervinieron como ponentes los profesores F. Mora (Departamento de Fisiología de la Universidad Complutense de Madrid) sobre «Determinantes del envejecimiento cerebral», V. Richter (Instituto de Medicina de Laboratorio del Hospital Clínico de la Universidad de Leipzig) sobre «Marcadores del envejecimiento de la pared y contenido vascular» y H. Niedermüller (Instituto de Gerontología Experimental de la Universidad de Veterinaria de Viena) sobre «Marcadores de apoptosis en el envejecimiento *in vitro* e *in vivo*»: los organizadores y moderadores fueron los autores del presente trabajo.

Correspondencia: Prof. Dr. A. Ruiz-Torres.
Instituto Universitario de Investigación Gerontológico.
Diego de León, 62. 28006 Madrid. España.
Correo electrónico: ivigno.hlpr@salud.madrid.org

Recibido el 20-10-03; aceptado el 25-10-03.

INTRODUCCIÓN Y PRESENTACIÓN DEL PROBLEMA

El envejecimiento es un proceso regresivo referido a todo el organismo. Cuando cesa el crecimiento, llevándose a cabo la diferenciación, el organismo ha alcanzado la optimización biológica. A partir de ese momento, se detecta la mencionada regresión, en la que el organismo muestra un grado de involución siempre superior al presentado inmediatamente antes. Este proceso paulatino es irreversible, de acuerdo con un comportamiento compaginable con el de la entropía. Por consiguiente, existiría envejecimiento durante toda la vida adulta. En este sentido, el estado biológico del organismo humano retrocede progresivamente durante el transcurso de este período.

El mencionado descenso de la calidad biológica está relacionado con una progresiva inestabilidad del genoma. Aparece cuando la resistencia genómica es progresivamente vencida por la influencia del medio ambiente, es decir, en un equilibrio de fuerzas, la agresión medioambiental supera cada vez más la capacidad de resistencia del genoma. Lógicamente, lo último dependerá de la calidad génica predeterminada en el individuo en cuestión. Por este motivo se comprende que el detrimento del estado biológico muestre una pendiente o aceleración estrechamente vinculada con la persona en cuestión, aun cuando se trate de individuos que vivan en un mismo medio.

Las diferencias en la constelación génica pueden explicar propiamente la característica individual del curso del envejecimiento, cuando se dé el caso que, viviendo en un mismo medio, los organismos puedan estar expuestos al mismo grado de agresión. No obstante, la influencia medioambiental no es estandarizable. En efecto, en un determinado medio, la agresión ejercida, por ejemplo, sobre un grupo homogéneo de individuos puede ser de diferente grado. Por tanto, hay motivos más que suficientes para comprender que, durante la vida de un organismo, el descenso paulatino de su calidad biológica debe mostrar ostensibles variaciones individuales.

Por último, es importante señalar que, expresado gráficamente, la curva descendente del mencionado detri-

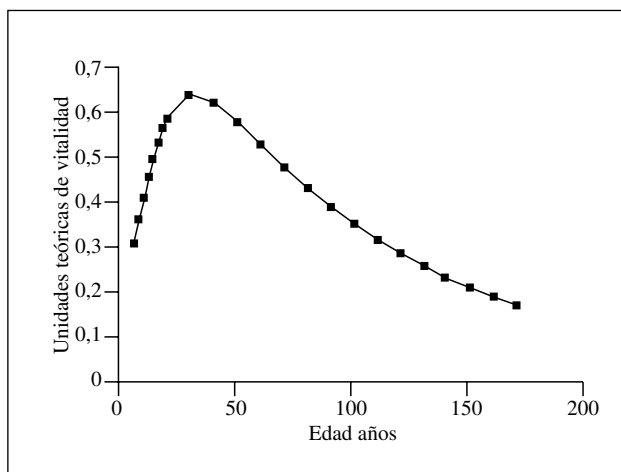


Figura 1. Comportamiento de la vitalidad desde el nacimiento. Se observa un valor de máxima vitalidad y, a partir de aquí, un descenso paulatino que puede identificarse con el avance del envejecimiento. A edades avanzadas, cuando la vitalidad es inferior a la mostrada al nacer, se apunta hacia la cercanía de la muerte. Por tanto, en este individuo, el potencial de vida al nacimiento sería alrededor de los 110 años, aun cuando la curva que aquí se presenta alcance edades muy superiores con valores mucho más bajos, pero poco compatibles con la supervivencia. La curva representada se obtiene con una tasa de crecimiento de 0,08 cm (hasta su finalización) y de envejecimiento de -0,01 unidades de vitalidad por año (a partir del máximo). La tasa de crecimiento aquí mencionada hace que el valor máximo se desplace hacia la derecha, sin influir, en cambio, sobre la pendiente de envejecimiento (tomada de Beier¹).

mento biológico no es una constante por unidad de tiempo, sino que está sometida a intermitentes aceleraciones, por ejemplo, producidas por enfermedades infecciosas. No obstante, la integración de todas estas variaciones de pendiente en una sola curva da lugar a una resultante que sí puede expresarse como constante de deterioro por unidad de tiempo o tasa de envejecimiento que, como ya se ha mencionado, varía según el individuo.

Vitalidad

Significa el potencial vital de un determinado individuo en un momento de su vida. Su expresión matemática se la debemos a Beier¹ y su interpretación gerontofilosófica a Kment².

La vitalidad es equiparable al estado biológico. Por tanto, en un momento determinado de la vida de un individuo, su vitalidad equivaldría al de su edad biológica. A lo largo de la vida del individuo, la vitalidad muestra un valor mínimo al nacer, el máximo se alcanza cuando finaliza el crecimiento y la diferenciación («vida óptima» según Kment, de máxima capacidad reproductora). A partir de aquí la vitalidad desciende de manera paulatina, hasta llegar a un valor mínimo incapaz de garantizar la supervivencia del determinado individuo (fig. 1). Comprensiblemente, la función matemática de la vitalidad lleva implícita dos constantes: la de crecimiento y la de «pri-

vación» o de envejecimiento que expresa la regresión biológica y que se corresponde con la antes mencionada tasa de envejecimiento.

Edad biológica

De lo mencionado anteriormente se deduce que personas con los mismos años de vida, es decir, de la misma edad cronológica, deberían manifestar distinto grado de detrimento biológico o edad biológica. Se trata de una dimensión capaz de indicar el potencial de vida que teóricamente todavía dispone el individuo en cuestión. Por tanto, puede ser considerado como predictor de supervivencia. No es de extrañar que, por su gran relevancia, a la determinación de la edad biológica se le haya prestado hasta el momento una especial atención, ocupando uno de los puestos prioritarios en la investigación gerontológica. Desgraciadamente, todavía no disponemos de un método seguro para este cometido, si bien está muy claro que depende de la fiabilidad, adecuación y calidad de los parámetros, cuyos valores reflejan en su conjunto el estado biológico de un organismo. En estas circunstancias, estos parámetros serían marcadores biológicos del envejecimiento, lo que es equiparable a biomarcadores de la edad biológica.

No obstante, si bien hay una multitud de manifestaciones que aparecen mientras avanza la edad del adulto, por tanto, apuntan hacia la regresión biológica, en cambio, pocas pueden ser aplicadas como parámetros del envejecimiento. Todavía menos posible se hace su utilización para estimaciones de la edad biológica, ya que deben reunir un mínimo de condiciones que lo permita. Es decir, todo el organismo debe estar implicado en el resultado; por consiguiente, tiene que ser generalizable, mostrar una reproducibilidad óptima y, no obstante, ser de simple obtención. Lo último es comprensible, ya que no puede aplicarse un procedimiento metodológico causante de rechazo por parte del individuo en cuestión, ya sea por la duración o por la sobrecarga física o psíquica a la que se le someta. De aquí que sólo un número reducido de medidas sean susceptibles de ser realizadas, pero deben permitir la obtención de un resultado que exprese, en el momento elegido, el estado biológico del determinado organismo. Las dificultades que de aquí emanan son ostensibles, aun sin haber llegado hasta el momento a una definición unánimemente aceptada de lo que son marcadores biológicos.

En términos estrictos, marcadores biológicos del envejecimiento serían cuantificaciones objetivas directamente vinculadas al envejecimiento intrínseco y a los procesos respectivos de su regulación, por ejemplo, relacionados con la reparación. En cambio, sería muy dudosa su aplicación en el caso de las variaciones funcionales, ya sean manifestadas por el propio individuo o registradas por el observador. De aquí que se ofrezca el dato analítico de laboratorio como procedimiento metodológico idóneo, ya que su resultado es independiente de toda subjetivi-

dad, ya sea la del observador o del propio individuo. El problema está en compaginar esta premisa con las anteriormente mencionadas.

De un orden superior al primer eslabón: determinantes del envejecimiento biológico

Enfocando así la cuestión, conviene comprender ahora el envejecimiento dentro de la organización estructural del organismo humano, resaltando los procesos que determinan el deterioro orgánico a medida que transcurre la vida. Resulta lógico que aquí prestemos primordial atención al respectivo comportamiento del cerebro y del aparato circulatorio, ya que son la clave de la supervivencia del organismo. El efecto del desgaste con el paso del tiempo y de la reparación de lo dañado desempeñaría un papel determinante. No obstante, el primer eslabón dentro de ese orden integrador lo forma el entramado tisular, en especial la propia célula, de cuya determinación génica dependerá no sólo la capacidad de supervivencia, sino la duración de la vida. Efectivamente, la muerte programada, denominada apoptosis, es la expresión limitante de la vida celular, si bien tiene dos vertientes: la periódica de replicación por mitosis regenerativa, demostrable en cualquier período de la vida, y la gerontológica por agotamiento del programa vital del entramado celular orgánico. Por ejemplo, el epitelio de la piel, de la próstata etc., se regenera con la ayuda de este tipo de muerte programada; es decir, tras la mitosis, una de las células se «suicida» por apoptosis, dejando a la otra lista para la renovación celular mediante una equivalente sustitución. De no ser así, es decir, por inhibición de la apoptosis, el tejido en cuestión tendría un crecimiento tumoral. Por otro lado, la otra forma de apoptosis está vinculada al término del período vital; podría ser considerada como la muerte celular programada cuando el envejecimiento llega a su fin.

La finalidad es esclarecer los aspectos señalados en referencia a los componentes más esenciales del entramado estructural de nuestro organismo, es decir, el cerebro, el aparato circulatorio y la célula. Con la atención puesta en los conceptos de marcador biológico, de determinante del deterioro y del de la predicción de supervivencia, se pretende resaltar la manifestación más esencial que pudiera «marcar» —y así representar cuantitativamente— el grado de envejecimiento de la respectiva localización. A continuación discutimos y resumimos los resultados.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Preámbulo de consideraciones finales

Los marcadores del envejecimiento se definen como las variables biológicas que se modifican con la edad de un modo característico y que permiten evaluar la progresión de la senescencia en individuos o poblaciones,

realizar predicciones sobre el deterioro funcional y la esperanza de vida, así como reflejar la influencia ejercida por determinados factores sobre el avance del envejecimiento.

Desde que Verzáz³, a mitad del siglo pasado, lanzase la idea de que, durante la vida, los cambios en la estabilidad del colágeno del tendón de la cola de rata reflejan el avance de la edad biológica de dicho animal, se han empleado diferentes parámetros en distintas localizaciones de la jerarquía orgánica, tanto en el ámbito molecular como en el conductual, con el fin de cuantificar el envejecimiento en humanos o en animales de laboratorio.

El propósito de medir el envejecimiento con sólo uno o muy pocos parámetros se basa en el concepto de considerar el citado proceso como consecuencia de un origen primario, donde unas cuantas reacciones moleculares o subcelulares desempeñarían el papel desencadenante, propagándose regularmente por todo el organismo. Sin embargo, los datos empíricos del declive funcional en la senescencia (fig. 2) no indican alguna regularidad en el proceso intrínseco del envejecimiento.

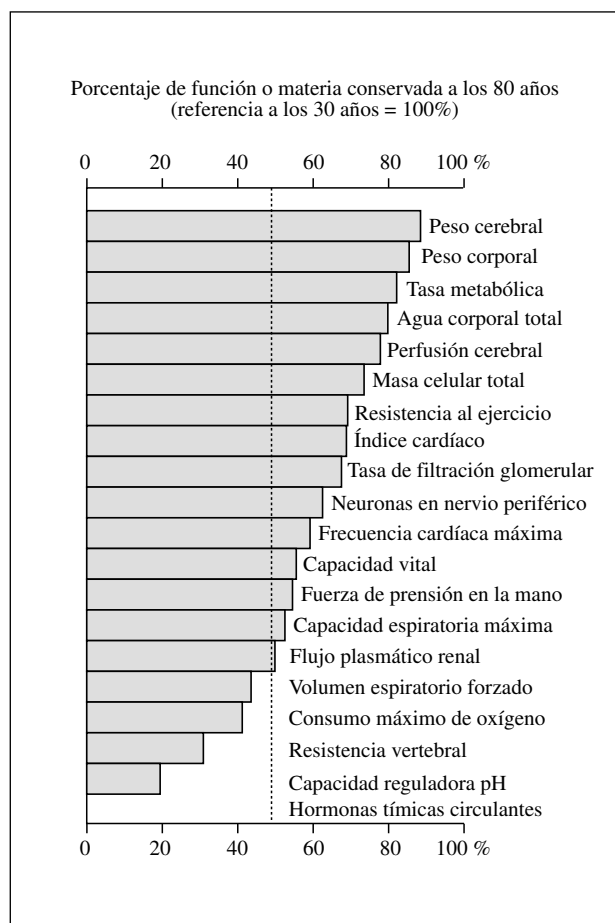


Figura 2. Efectos del envejecimiento humano sobre diversos sistemas y funciones (datos tomados de la bibliografía).

Asincronización del ritmo de envejecimiento: cerebro

La dimensión de los cambios propios del envejecimiento varía considerablemente según se trate de unos u otros sistemas. En efecto, debido a que parecen ocurrir de modo asincrónico, no pueden ser considerados dentro de un modelo general de envejecimiento genéticamente determinado.

En ausencia de enfermedad neurológica degenerativa, tanto el peso del cerebro como su función (entendida esta última como resultado de la perfusión cerebral) disminuyen muy levemente con el avance de la edad. Mora subraya, en su ponencia sobre «Determinantes del envejecimiento cerebral», que las neuronas no mueren simplemente por envejecimiento o mediante mecanismos intrínsecos de apoptosis. Su supervivencia e integridad dependería más de fenómenos como el estilo de vida individual, que determina la plasticidad neuronal, y de un teórico mecanismo de autoprotección mediado por factores neurotróficos. Por ejemplo, los medios enriquecidos y la realización de ejercicio han demostrado estimular la actividad celular del cerebro en ratas, a través de la producción de un factor neurotrófico cerebral (FNC) y de la expresión de sus receptores⁴. El principio básico contra la degeneración y la pérdida neuronal del cerebro con aumento progresivo de la edad parece ser «usarlas para no perderlas», siempre que los mecanismos homeostáticos continúen proporcionando un soporte adecuado.

Aparato circulatorio

Sin embargo, los sistemas de homeostasis más críticos —respiratoria, circulatoria y renal— muestran un importante deterioro con la edad, hasta alcanzar un 30-50% de su función. Richter, en su ponencia sobre «Envejecimiento de la pared vascular y sus componentes», recuerda la universalidad de los procesos inflamatorios que sufre la pared de todos los vasos sanguíneos durante el proceso de envejecimiento. Como marcadores de este estado crónico de inflamación, Richter destacó la molécula de adhesión celular E-selectina, la molécula-1 de adhesión intracelular (MAI-1) y la molécula-1 de adhesión vascular (MAV-1). Estas adhesinas desempeñan un importante papel en la migración transendotelial de los leucocitos en los procesos inflamatorios. Entre todas ellas, la MAV-1 circulante se encontró especialmente elevada en ancianos con diferentes categorías de riesgo cardiovascular de origen aterosclerótico. Si bien la mayor parte de la reducción en la eficacia de los sistemas de homeostasis en el envejecimiento humano es debida, con toda probabilidad, al proceso de aterosclerosis, parece describirse un hecho propio del envejecimiento normal consistente en la interacción entre el sistema inmunitario y la pared vascular, con una implicación directa en el desarrollo de la placa aterosclerótica.

Los déficit funcionales de la senectud se evidencian con mayor dramatismo si se somete al organismo a situa-

ciones que bordean los límites de su capacidad, como la disminución del consumo máximo de oxígeno ante la realización de un ejercicio extenuante hasta el 40%, la pérdida de eficacia de la regulación del pH hasta un 30%, o la de resistencia a la compresión de los cuerpos vertebrales hasta un 20% de los valores de un adulto joven.

Además, el sistema inmunitario dependiente del timo es el que sufre la pérdida más dramática con el envejecimiento. A los 80 años de edad, tanto la producción de hormonas tímicas como la de células madre T es prácticamente nula. Un gran número de consecuencias patológicas del envejecimiento, como la aterosclerosis, la osteoporosis o la enfermedad de Alzheimer, parecen estar íntimamente relacionados con este último fenómeno.

Muerte celular

La diversidad y la aparente implicación irregular del envejecimiento en el más alto grado de la organización orgánica ha propiciado la búsqueda de marcadores de envejecimiento en procesos más básicos o primarios de ámbito subcelular y molecular. En este contexto, la apoptosis ha ganado interés recientemente como hipótesis etiológica, tanto del envejecimiento fisiológico como patológico. El apoyo de la hipótesis apoptótica procede de los experimentos de Hayflick en el envejecimiento clonal, así como de estudios en levaduras y en *C. elegans*, además de observaciones relacionadas con enfermedades neurodegenerativas.

Niedermüller abordó el tema «Marcadores *in vitro* e *in vivo* de apoptosis en el envejecimiento» señalando que la apoptosis es una operación de «limpieza» celular individual marcada genéticamente y que tiene una función esencial, tanto de desarrollo como de mantenimiento a lo largo de la vida del individuo. Además, la apoptosis sirve como mecanismo de defensa ante la infección y las neoplasias. Por ejemplo, en el envejecimiento cerebral, se necesita una respuesta apoptótica adecuada para permitir el remodelado eficaz de las redes neuronales. Analizadas las reacciones celulares más destacadas en la apoptosis (como son la expresión de p53 en células con daño en ADN no reparado, la activación del dominio que codifica la muerte celular [ligando CD 95/*fas*] mediante señales externas, o la respuesta que la mitocondria proporciona vía citocromo C tras algunas reacciones de estrés oxidativo) parece más factible entender este fenómeno como un instrumento dirigido a la retirada de células dañadas o peligrosas que una verdadera causa de pérdida celular propia del envejecimiento fisiológico.

Se conocen numerosos métodos para la identificación de células apoptóticas y de los reguladores de su destrucción, incluyendo la tinción de la viabilidad celular, la detección de cambios de superficie como la externalización de fosfatidilserina, o la denominada tinción TUNEL. Dichos métodos han sido empleados principalmente en estudios experimentales sobre muestras celulares o tis-

lares procedentes de animales de laboratorio. Sin embargo, nunca se han correlacionado con verdaderos marcadores de envejecimiento humano. Aunque se había demostrado que el porcentaje de células mononucleares sanguíneas en fase de apoptosis es mayor cuanto más viejo es el individuo⁵, este hecho parece reflejar un aspecto concreto del envejecimiento del sistema inmunológico, más que un verdadero marcador de declive del organismo como un todo.

Conclusiones finales

En la figura 3, de Strehler, modificada por nosotros, se aprecia la organización jerárquica del envejecimiento que plasmó en su famoso libro *Time, Cells and Aging*⁶. En él se aborda una teoría básica para comprender la edad biológica. El envejecimiento se originaría en el ámbito molecular y subcelular, como resultado de una predisposición genética y del efecto estocástico. Este proceso primario alcanzaría los diferentes niveles jerárquicos del organismo, ocasionando tanto efectos deletéreos como reacciones compensadoras para mantener la homeostasis. Como consecuencia de ello, a diferentes niveles se apreciarían manifestaciones del envejecimiento en distintos momentos y con distinta dinámica. De todos modos, en un nivel jerárquico particular, la edad tampoco se manifiesta de modo uniforme, sino con una diferente dinámica dependiendo del tipo de molécula, célula, tejido o sistema funcional afectados. Esta variabilidad parece que alcanza una mayor intensidad a medida que descendemos en la jerarquía animal. Finalmente, para añadir mayor complejidad —como mostró convincentemente Mora— se puede llegar a modificar el conjunto de reacciones que ocurren en el ámbito molecular y subcelular mediante el comportamiento, el ejercicio programado y en medios enriquecidos. Este tipo de «causalidad retrógrada» de sucesos se correlaciona con hallazgos previos de laboratorio, donde se demostró que el entorno social de las ratas podía modificar el envejecimiento a todos los niveles, desde el ámbito molecular hasta la respuesta patológica, teniendo una mayor repercusión en la supervivencia que en el propio proceso primario de envejecimiento⁷.

En conclusión, los cambios observados en un pequeño conjunto de parámetros en el ámbito molecular, *per se* no pueden representar el proceso de envejecimiento del organismo humano como un todo, ni permiten realizar predicciones sobre la edad biológica y la longevidad. El envejecimiento normal resulta particularmente evidente en el ámbito sistémico más desarrollado, el fisiológico. Solamente se debería considerar que los cambios moleculares, subcelulares y celulares forman parte del envejecimiento de dicho sistema en la medida en que contribuyan al deterioro de su vitalidad o sean marcadores de

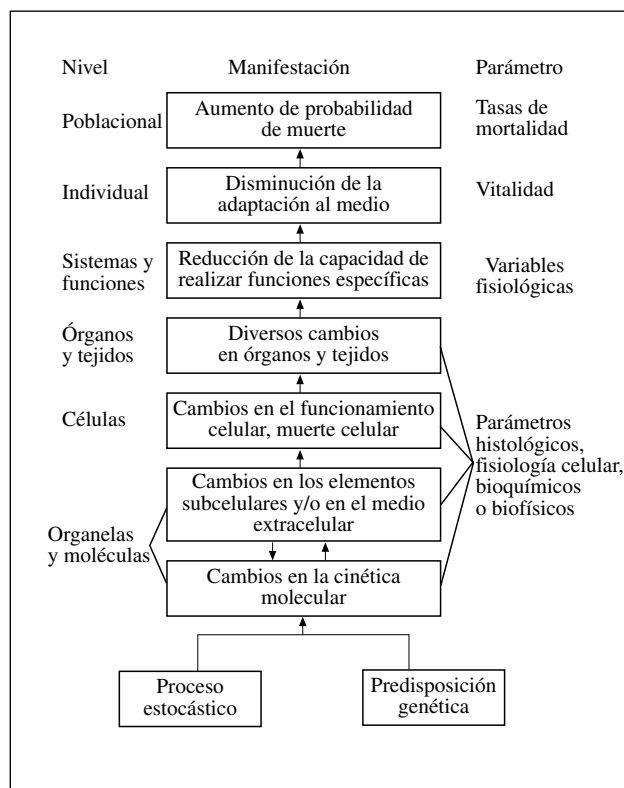


Figura 3. Niveles de envejecimiento y sus marcadores correspondientes (modificada de Strehler⁶).

una mayor susceptibilidad de padecer enfermedades asociadas a la vejez, como ocurre con los cambios en las moléculas de adhesión celular y en los linfocitos T. La mayoría de estos marcadores pueden ser útiles para llevar a cabo estudios epidemiológicos de envejecimiento de ámbito poblacional, pero no son adecuados para realizar un diagnóstico de situación de capacidad y facultades en un individuo en particular.

BIBLIOGRAFÍA

1. Beier W. Skalare und vektorielle Beschreibung der Altersprozesse des Menschen. En: Beier W, Laue R, editors. Berlin: Prozesse des Alterns AkademieVerlag Berlin, 1989; p. 25-46.
2. Kment A. Metagerontologie zur Ontologie des biologischen Alterns. En: Niedermüller H, editor. Advances in experimental gerontology. Vienna Aging Series. Viena: Facultas Universitätsverlag, 1989; p. 277-88.
3. Verzar F. Experimentelle Gerontologie. Stuttgart: Enke, 1965.
4. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise, a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. Trends Neurosci 2002;25:295-301.
5. Pollack M, Leeuwenburgh C. Apoptosis and aging: role of the mitochondria. J Gerontol B 2001;(Supl 56A):B475-82.
6. Strehler BL. Time, cells and aging. New York: Academic Press, 1982.
7. Hofecker G, Niedermüller H, Skaliky M. Basic somatic aspects of aging and longevity. En: Ermini, et al, editors. New York, London: Academic Press, 1993.