

VNIVERSIDAD DE SALAMANCA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE MEDICINA



*Distribución de polimorfismos de genes de la autofagia
y reparadores del DNA en una población anciana*

TESIS DOCTORAL

José Ignacio Martín González

2015



VNiVERSiDAD
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

*Distribución de polimorfismos de genes de la autofagia
y reparadores del DNA en una población anciana
hospitalizada*

TESIS DOCTORAL

José Ignacio Martín González

2015

DIRECTORES

Prof. Dr. D. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO.

Catedrático del Departamento de Medicina, Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

Director del Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).

Dr. JOSÉ IGNACIO HERRERO HERRERO

Profesor Asociado de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

Jefe de Servicio de Medicina Interna, Servicio de Medicina Interna-Los Montalvos, Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.



VNIVERSIDAD
D SALAMANCA

CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

Prof. Dr. D. ROGELIO GONZÁLEZ SARMIENTO.

Catedrático del Departamento de Medicina, Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

Director del Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL).

Dr. JOSÉ IGNACIO HERRERO HERRERO

Profesor Asociado de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina de la Universidad de Salamanca.

Jefe de Servicio de Medicina Interna, Servicio de Medicina Interna-Los Montalvos, Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.

CERTIFICAN:

Que el trabajo realizado bajo nuestra dirección por D. José Ignacio Martín González, titulado: "*Distribución de polimorfismos de genes de la autofagia y reparadores del DNA en una población anciana hospitalizada*" reúne las condiciones de originalidad requeridas para la obtención del título de Doctor en Medicina. Y para que así conste a todos los efectos oportunos, firmamos la siguiente certificación en Salamanca, Diciembre de 2015.

Fdo.: Dr.D. José Ignacio Herrero Herrero Fdo.: Dr. D. Rogelio González Sarmiento

AGRADECIMIENTOS

Quiero mostrar mi más sincera gratitud a todas las personas que han hecho posible la consecución de este trabajo.

En primer lugar, a los directores de este trabajo, los doctores José Ignacio Herrero Herrero y Rogelio González Sarmiento, por su inestimable ayuda en la creación y desarrollo de este proyecto.

A la Dra. Judit García Aparicio que ayudó de forma activa en la fase inicial, aportando ideas para el estudio y recogiendo los datos clínicos de los enfermos.

Al personal de Enfermería y de Laboratorio del Hospital de Los Montalvos, en especial a Acisclo Calvo Robles, por su gran ayuda en la recogida y mantenimiento de las muestras.

Al personal del Laboratorio del Departamento de Medicina, especialmente a Ricardo Usastegui Martín, ya que sin su ayuda hubiera sido imposible realizar la parte laboratorial del estudio.

A Javier Martín, Estadístico de la Facultad de Medicina, por su gran ayuda en la realización del estudio estadístico, por su celeridad y precisión con la que ha tratado los datos

Por último, quisiera agradecer a mi familia y en especial a mi mujer, Marian y a mi hija, Cristina, por la comprensión, paciencia y cariño en todos estos días "robados" para desarrollar el trabajo.

Sin todos ellos, este trabajo no habría sido posible.

GLOSARIO

ABVD: Actividades básicas de la vida diaria.
ADN-DNA: Ácido desoxirribonucleico.
ADIPOQ: Adiponectin C1Q.
ADRA2A: Alpha adrenergic receptor gene.
AIVD: Actividades instrumentales de la vida diaria.
AlphaB-R120G: Arginine to glycine mutation in alphaB-crystallin.
AMPK: Activated protein kinase.
APE1/REF-1: Apurina/Apirimidina endonucleasa 1.
APOA1: Apolipoprotein A1.
3'APOB-VNTR: Apolipoprotein B3' hypervariable regions.
APOE: Apoprotein E/Apolipoproteína E.
ATM: Ataxia telangiectasia mutated.
Bcl-2: B-cell lymphoma 2.
BER: Base excision repair.
CA: Circunferencia del antebrazo.
CDK1: Cyclin-dependent kinase 1.
CDKN2A: Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A.
C.elegans: Caenorhabditis elegans.
CETP: Cholesteryl ester transfer protein.
CHMP4B: Charged multivesicular body protein 4B.
CHS: Cardiovascular Health Study.
CIAA: Cloroformo alcohol isoamílico 24:1.
CICr: Aclaramiento de creatinina.
CP: Circunferencia de la pantorrilla.
CSB: Cockayne syndrome B gene.
DHEA-s: Dehidroepiandrosterona sulfato.
DLAD/DNAasa 2b: DNAasa II like.
DMAE: Degeneración macular asociada a la edad.
DSBR: Double strand breaks repair.
EPG5: Ectopic P-granules autophagy protein 5 homolog.
Estudio SHARE: Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe.
EWAS: Epigenomewide association scan.
ESCRT: Endosomal sorting complex required for transport.
EXO1: Exonuclease 1.
FHS: Framingham study.
FLIP: Flice inhibitory protein.
FOXO3A: Forhead box O3.
FYCO1: FYVE and coiled-coil domain containing 1.
Framingham 550K SNP: Participantes del estudio Framingham genotipados con Affymetrix 550K SNPs.
FTO: Fat mass and obesity associated gen.
GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.
GDS: Geriatric depression scale.
GFP/LC3: Green fluorescent protein/microtubule-associated protein light chain 3.
GIP: Gastric inhibitor polypeptide.
GNB3: Guanine nucleotide binding protein.
GPR37: G-protein-coupled receptor 37.
GWAS: Genomic wide association study/Análisis del genoma completo.

HR: Homologous recombination repair.
Hsp90: Heat shock protein 90.
IMC: Índice de masa corporal.
IGF-1: Insulin growth factor-1.
IIS: Insulin/insulin-like growth factor signaling pathway.
IL-6: Interleuquina 6.
INE: Instituto Nacional de Estadística.
JNK: C-Jun N terminal-kinase.
KL: Khotho gene.
LEPR: Leptin receptor precursor gene.
LLS: Leyden longevity study.
LMNA: Laminin A gene.
LP-BER: Long-patch BER.
LRKK2: Leucine-rich repeat kinase 2.
MC4R: Melanocortin-4 receptor.
MGMT: Metilguanina DNA metiltransferasa.
MLH1: MutL homolog 1
MMP: Metaloproteasas.
MMR: Mitch match repair.
MMSE: Mini mental state examination.
MNA: Mini-Nutriticional Assessment.
MODY: Maturity-onset diabetes of the young
MTP: Microsomial trygliceride transfer protein.
mTOR: Mamalian Target of Rapamycin.
NER: Nucleotide excision repair.
NFjB: Nuclear factor kappa B.
NHEj: Non-homologous end-joining repair
NHIS: National health interview survey.
NO: Óxido nítrico.
NOD2: Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2.
NOS: Nitric oxide synthase.
NBS1: Nijmegen breakage syndrome.
NF-κB: Nuclear factor kappa B.
O2: Oxígeno.
ONG: Organización no gubernamental.
OMS: Organización mundial de la salud.
PARK2: Parkin RBR E3 ubiquitin protein ligase.
PC12: Línea de células procedentes de médula adrenal de feocromocitoma utilizadas en modelos de Parkinson.
PCSK1: Prohormone convertase 1/3 gen.
PCR: Proteína C reactiva.
Pik3c3: Class III phosphatidylinositol 3-kinase.
PIP3: fosfatidilinositol 3 fosfato.
PINK1: PTEN-induced putative kinase 1.
POLB: Polymerase DNA directed beta.
PON1: Paraoxonase 1 gene.
PSEN1: Presenilin 1 gene.
RAGE: Receptor for advanced glycation endproducts.
RECQL4: RecQ helicase-like 4.
RNS: Radicales nitrogenados.

ROS: Especies de oxígeno reactivo.

SDS: Sodium Dodecyl Sulfate, concentración final 1%.

SHBG: Sex hormone binding globulin.

SH-SY57: Línea celular procedente de células de neuroblastoma utilizadas en modelos de Parkinson.

siRNA: Short interfering RNA.

SIRT1: Sirtuin-silent mating type information regulation 2 homolog 1.

SNP: Single nucleotide polymorfism/Polimorfismo de un único nucleótido.

SORCS1: Sortilin-related VPS10 domain containing receptor 1.

SORCS2: Sortilin-related VPS10 domain containing receptor 2.

SP-BER: Short-Patch-BER.

SPMSQ: Short portable mental state questionnaire.

STK39: Serina-treonina quinasa 39.

TCF7L2: Transcription factor 7-like 2 gene.

TERC: Telomerase RNA component.

TERT: Telomerase reverse transcriptase.

TM: Transmembrane gene.

TOR: Target of Rapamycin

TSC1 y TSC2: Tuberous sclerosis 1 and 2--hamartin and tuberin.

UBE: Unidades básicas de etanol.

UE: Unión Europea.

UE-28: Unión Europea con 28 países miembros.

UPS: Ubiquitin proteasome system.

VNTR: Variable number tandem repeat.

WRN gen: Werner syndrome gene.

XPD/ERCC2: Xeroderma pigmentosum complementation group D/Excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 2.

XRCC1: X-ray repair cross-complementing protein 1.

ÍNDICE TEMÁTICO

1. Introducción	27
1.1. Evolución demográfica de la sociedad/realidad demográfica actual	27
1.2. Características del envejecimiento	30
1.3. Fenotipos de envejecimiento	30
1.3.1. Envejecimiento usual	31
1.3.2. Envejecimiento saludable	31
1.3.3. Otros subtipos de envejecimiento positivo	33
1.3.4. Fragilidad	33
1.3.4.1. Definición y concepto de fragilidad	33
1.3.4.2. Epidemiología de la fragilidad	36
1.3.4.3. Fisiopatología de la fragilidad	37
1.3.4.4. Intervención y cuidados de los enfermos frágiles	41
1.3.5. Incapacidad para desarrollarse ("faliure to thrive")	43
1.3.5.1. Concepto e implicaciones del término "faliure to thrive"	43
1.3.5.2. Epidemiología de los enfermos con fenotipo "faliure to thrive"	43
1.3.5.3. Factores causales relacionados: pérdida de peso, discapacidad y deterioro cognitivo	43
1.3.5.4. Valoración y diagnóstico de los enfermos	46
1.3.5.5. Intervención y cuidados	47
1.4. Genética y envejecimiento	48
1.4.1. El peso de la genética, influencia del estilo de vida/epigenética, el envejecimiento como rasgo poligénico	48
1.4.2. Vías metabólicas relacionadas con el envejecimiento y la longevidad: DNA mitocondrial, estrés oxidativo y telómeros	50
1.4.3. Estudios que relacionan la genética, el envejecimiento y la longevidad	52
1.4.4. Las especificidades de los centenarios	56
1.4.5. Autofagia	58
1.4.5.1. Autofagia: generalidades/importancia metabólica	58
1.4.5.2. Autofagia y envejecimiento.	60
1.4.5.3. Evidencias que relacionan a la autofagia y el envejecimiento	64
1.4.6. Genes reparadores del DNA	66
1.4.6.1. Importancia de los genes reparadores del DNA	66

1.4.6.2. Subtipos de mecanismos reparadores del DNA.....	66
1.4.6.3. Genes reparadores del DNA y envejecimiento.	69
1.5. Polimorfismos: concepto y aplicaciones clínicas	71
1.5.1. Polimorfismos incluidos en el estudio	72
1.5.1.1. SNP ATG16L1 rs2241880.....	72
1.5.1.2. SNP ATG2B rs3759601	73
1.5.1.3. SNP ATG5 rs2245214.....	74
1.5.1.4. SNP ATG10 rs1864183.....	75
1.5.1.5. SNP XRCC1 rs1799782.....	76
1.5.1.6. SNP XPD/ERCC2 rs13181	77
1.5.1.7. SNP TP53 rs1042522	78
2. Hipótesis de trabajo	81
3. Objetivos del estudio.....	83
3.1. Objetivo general	83
3.2. Objetivos específicos.....	83
4. Material y métodos.....	87
4.1. Pacientes.....	87
4.2. Variables recogidas en el estudio.....	87
4.3. Muestras con población joven	88
4.4. Estudio de laboratorio.....	89
4.4.1. Estudio de Polimorfismos en genes de la Autofagia y reparadores del DNA mediante amplificación con sonda TaqMan®	90
4.5. Estudio estadístico	94
5. Resultados.....	97
5.1. Estadística descriptiva.....	97
5.1.1. Datos epidemiológicos	97
5.1.2. Resultados de las variables físicas y de laboratorio recogidas en el estudio.....	101
5.1.3. Comorbilidades	103
5.1.4. Escalas funcionales, cognitivas y anímicas.....	110
5.1.5. MNA (valoración nutricional)	112
5.1.6. Fragilidad y percepción subjetiva de envejecimiento	116
5.1.7. Escala de calidad de vida autopercebida (SF-12)	119
5.1.8. Fenotipos de envejecimiento.....	120

5.2. Resultados (estudio estadístico)	121
5.2.1. Relación de los polimorfismos estudiados con la comorbilidad.....	122
5.2.1.1. SNP ATG16L1 rs221880.....	122
5.2.1.2. SNP ATG2B rs3759601	123
5.2.1.3. SNP ATG5 rs2245214	124
5.2.1.4. SNP ATG10 rs1864183.....	125
5.2.1.5. SNP XRCC1 rs1799782.....	126
5.2.1.6. SNP APD/ERCC2 rs13181	127
5.2.1.7. SNP TP53 rs1042522	128
5.3. Resultados asociativos positivos entre los polimorfismos estudiados y las comorbilidades	129
5.3.1. SNP ATG16L1 rs2241880 y catarata	129
5.3.2. SNP ATG16L1 rs2241880 y hemiplejía.....	132
5.3.3. SNP ATG5 rs2245214 y enfermedad de Parkinson.....	135
5.3.4. SNP ATG10 rs1864183 y diabetes mellitus con repercusión de órgano diana	137
5.3.5. SNP XRCC1 rs1799782 y pluripatología.....	140
5.3.6. SNP XRCC1 rs1799782 e hipertensión arterial	143
5.3.7. SNP XPD/ERRC2 rs13181 y obesidad	145
5.3.8. SNP XPD/ERRC2 rs13181 y depresión	148
5.3.9. SNP XPD/ERRC2 rs13181 e insuficiencia renal crónica grave.....	150
5.3.10. SNPTP53 rs1042522 y afectación metastásica por tumores sólidos	152
5.4. Comparación en la distribución de polimorfismos entre nuestra población y población joven.....	155
6. Discusión	161
6.1. Fenotipos de envejecimiento.....	161
6.2. Autofagia y catarata.....	164
6.3. Autofagia y enfermedad cerebrovascular/riesgo cardiovascular	166
6.4. Autofagia y enfermedad de Parkinson.....	168
6.5. Autofagia y diabetes mellitus.....	171
6.6. Genes reparadores del DNA y pluripatología	173
6.7. Genes reparadores del DNA e HTA	173
6.8. Genes reparadores del DNA y obesidad	175
6.9. Genes reparadores del DNA e insuficiencia renal crónica grave.....	176

6.10. Genes reparadores del DNA y enfermedad tumoral metastásica.....	177
6.11. Comparación en la distribución de polimorfismos entre nuestra población y población joven	178
7. Limitaciones del estudio.....	181
8. Conclusiones	185
9. Anexos	189
10. Bibliografía	201

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1: Evolución de los nacimientos en España desde el año 1993 al 2013. Página 27.
- Figura 2: Variación anual en el número de defunciones del año 2003 al 2013. Página 27.
- Figura 3: Saldo vegetativo por comunidades autónomas en el año 2013. Página 28.
- Figura 4: Modelo de envejecimiento usual. Página 31.
- Figura 5: Modelo de envejecimiento saludable. Página 32.
- Figura 6: Criterios de fragilidad incluidos en el estudio de Fried. Página 34.
- Figura 7: Relación entre la comorbilidad, la discapacidad y la fragilidad. Página 35.
- Figura 8: Ciclo de la fragilidad, con la sarcopenia como actor principal. Página 37.
- Figura 9: Fisiopatología de la fragilidad. Página 38.
- Figura 10: Índice de Katz. Página 44.
- Figura 11: Índice de Lawton-Brody. Página 45.
- Figura 12: Mecanismo de actuación de la autofagia. Página 59.
- Figura 13: Regulación de la autofagia en diferentes modelos de manipulación genética y farmacológica. Página 61.
- Figura 14: Mecanismo de discriminación alélica mediante sondas Taqman® empleando flurocromos VIC y FAM. Página 91.
- Figura 15: Gráfico de discriminación alélica. Página 92.
- Figura 16: Edad de los enfermos incluidos en el estudio. Página 98.
- Figura 17: Localidad de residencia de los enfermos integrantes del estudio por comarcas. Página 100.
- Figura 18: Fármacos que tomaban los enfermos incluidos en el estudio. Página 100.
- Figura 19: Modalidad de residencia de los enfermos incluidos en el estudio. Página 100.
- Figura 20: Valores de albúmina plasmática de los enfermos incluidos en el estudio. Página 101.
- Figura 21: Valores de colesterol de los enfermos incluidos en el estudio. Página 102.
- Figura 22: Índice Katz que calibra actividades básicas de la vida diaria. Página 110.
- Figura 23: Perfil cognitivo de los enfermos del estudio. Página 111.
- Figura 24: Estado nutricional de los enfermos del estudio. Página 112.
- Figura 25: Distribución de enfermos según criterios de fragilidad. Página 116.
- Figura 26: Distribución de los enfermos según la percepción subjetiva de envejecimiento. Página 116.

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1: Componentes de la reacción de PCR a tiempo real y las cantidades a añadir de cada uno de ellos. Página 92.
- Tabla 2: Denominación del gen, identificador y secuencia de contexto de cada SNP estudiados. Página 93.
- Tabla 3: Denominación de SNP, aminoácido mutado, localización cromosómica, función y codón de cada uno de los SNPs estudiados. Página 93.
- Tabla 4: Variables epidemiológicas (sexo, estado civil, estudios y lugar de nacimiento). Página 97.
- Tabla 5: Edad de fallecimiento de los padres. Página 98.
- Tabla 6: Historia de tabaquismo, alcoholismo y caídas en el último año. Página 99.
- Tabla 7: Carga tabáquica y enólica de los enfermos del estudio. Página 99.
- Tabla 8: Variables físicas y de laboratorio (FC en reposo, TAS, TAD, CICr, Glucosa, LDL-col, HDL-col, ferritina, vitamina B12, folato y fuerza muscular). Página 101.
- Tabla 9: Comorbilidades (disminución de la agudeza visual no subsanable con gafas, sordera no subsanable con prótesis auditiva, catarata y degeneración macular asociada a la edad). Página 103.
- Tabla 10: Comorbilidades (Enfermedad de Parkinson y úlceras por presión). Página 104.
- Tabla 11: Comorbilidades (HTA, obesidad, catarata, e insuficiencia renal crónica). Página 104.
- Tabla 12: Comorbilidades (depresión, psicosis). Página 105.
- Tabla 12: Comorbilidades (Artrosis, osteoporosis). Página 105.
- Tabla 14: Pluripatología/enfermedades presentes por enfermo desde el punto de vista numérico. Página 106.
- Tabla 15: Escala pronóstica de Charlson. Página 106.
- Tabla 16: Comorbilidades incluidas en la escala de Charlson (1). Página 107.
- Tabla 17: Comorbilidades incluidas en la escala de Charlson (2). Página 108.
- Tabla 18: Comorbilidades incluidas en la escala de Charlson (3). Página 109.
- Tabla 19: Escala de Lawton-Brody que calibra AIVD. Página 110.
- Tabla 20: Situación anímica de los enfermos recogidos en el estudio. Página 111.
- Tabla 21: Variables incluidas en el MNA (IMC, CA, CP). Página 112.
- Tabla 22: Variables incluidas en el MNA (pérdida de peso reciente, con quien vive el enfermo, polifarmacia, estrés médico o psicológico previo, movilidad y situación cognitiva). Página 113.

Tabla 23: Variables incluidas en el MNA (úlceras de presión, número de comidas completas al día, ingesta de proteínas, ingesta de frutas o verduras, limitación de la ingesta por problemas digestivos, toma de líquidos). Página 114.

Tabla 24: Variables incluidas en el MNA (manera de autoalimentarse, sensación de presencia de problemas nutricionales, estado de salud subjetivo por parte del enfermo). Página 115.

Tabla 25: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (1). Página 117.

Tabla 26: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (2). Página 118.

Tabla 27: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (3). Página 119.

Tabla 28: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (4). Página 120.

Tabla 29: Fenotipos de envejecimiento establecidos en el estudio. Página 120.

Tabla 30: Asociación entre el SNP ATG16L1 y las comorbilidades incluidas en el estudio. Página 122.

Tabla 31: Asociación entre el SNP ATG2B y las comorbilidades incluidas en el estudio. Página 123.

Tabla 32: Asociación entre el SNP ATG5 y las comorbilidades incluidas en el estudio. Página 124.

Tabla 33: Asociación entre el SNP ATG10 y las comorbilidades incluidas en el estudio. Página 125.

Tabla 34: Asociación entre el SNP XRCC1 y las comorbilidades incluidas en el estudio. Página 126.

Tabla 35: Asociación entre el SNP XPD/ERCC2 y las comorbilidades incluidas en el estudio. 127.

Tabla 36: Asociación entre el SNP p53 y las comorbilidades incluidas en el estudio. Página 128.

Tabla 37: Distribución de genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con el antecedente de catarata. Página 129.

Tabla 38: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con la catarata. Página 129.

Tabla 39: Odds entre el SNP de ATG16L1 y la catarata ajustados por sexo y edad. Página 130.

Tabla 40: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en enfermos con catarata. Página 130.

Tabla 41: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en los enfermos con catarata, modelo dominante. Página 130.

Tabla 42: Odds obtenidas por el alelo dominante del SNP ATG16L1 en enfermos con catarata. Página 131.

Tabla 43: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en los enfermos con catarata, modelo recesivo. Página 131.

Tabla 44: Odds obtenidas en estudio alélico modelo recesivo del SNP AGT16L1 en enfermos con catarata. Página 131.

Tabla 45: Distribución de genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con el antecedente de hemiplejía. Página 132.

Tabla 46: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con la hemiplejía. Página 132.

Tabla 47: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con la hemiplejía tras la modificación estadística pertinente por edad y sexo. Página 133.

Tabla 48: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en enfermos con hemiplejía. Página 133.

Tabla 49: Distribución de los alelos del SNP ATG16L1 en los enfermos con hemiplejía, modelo dominante. Página 133.

Tabla 50: Odds obtenidas por el alelo dominante del SNP AGT16L1 en enfermos con hemiplejía. Página 134.

Tabla 51: Distribución de los alelos del SNP ATG16L1 en los enfermos con hemiplejía, modelo recesivo. Página 134.

Tabla 52: Distribución de genotipos del SNP de ATG5 en relación con la enfermedad de Parkinson. Página 134.

Tabla 53: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG5 en relación con la enfermedad de Parkinson. Página 135.

Tabla 54: Odds entre el SNP de ATG5 y la enfermedad de Parkinson ajustados por sexo y edad. Página 136.

Tabla 55: Distribución alélica del SNP ATG5 en enfermos con Parkinson. Página 136.

Tabla 56: Distribución alélica del SNP ATG5 en los enfermos con Parkinson siguiendo el modelo dominante. Página 136.

Tabla 57: Distribución alélica del SNP ATG5 en los enfermos con Parkinson siguiendo el modelo recesivo. Página 137.

Tabla 58: Distribución de genotipos del SNP de ATG10 en relación con la presencia de diabetes con repercusión de órganos diana. Página 137.

Tabla 59: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG10 en relación con la diabetes con repercusión de órganos diana. Página 138.

Tabla 60: Odds entre el SNP de ATG10 y la diabetes con repercusión de órganos diana ajustados por sexo y edad. Página 138.

Tabla 61: Distribución alélica del SNP ATG10 en enfermos con diabetes con repercusión de órganos diana. Página 138.

Tabla 62: Distribución alélica del SNP ATG10 en los enfermos con diabetes mellitus con repercusión de órganos diana, modelo dominante. Página 139.

Tabla 63: Distribución alélica del SNP ATG10 en los enfermos con diabetes con repercusión de órgano diana, modelo recesivo. Página 139.

Tabla 64: Distribución de genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la pluripatología. Página 140.

Tabla 65: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la pluripatología. Página 140.

Tabla 66: Odds entre el SNP de XRCC1 y la pluripatología ajustados por sexo y edad. Página 141.

Tabla 67: Distribución alélica del SNP XRCC1 en enfermos con pluripatología. Página 141.

Tabla 68: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo dominante. Página 141.

Tabla 69: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo dominante ajustados por edad y sexo. Página 142.

Tabla 70: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo recesivo. Página 142.

Tabla 71: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo recesivo ajustados por sexo y edad. Página 142.

Tabla 72: Distribución de genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la HTA. Página 143.

Tabla 73: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la HTA. Página 143.

Tabla 74: Odds entre el SNP de XRCC1 y la HTA ajustados por sexo y edad. Página 144.

Tabla 75: Distribución alélica del SNP XRCC1 en enfermos con HTA. Página 144.

Tabla 76: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con HTA siguiendo el modelo dominante. Página 144.

Tabla 77: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con HTA siguiendo el modelo recesivo. Página 145.

Tabla 78: Distribución de genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la obesidad. Página 145.

Tabla 79: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la obesidad. Página 146.

Tabla 80: Odds entre el SNP de XPD/ERRC2 y la obesidad ajustados por sexo y edad. Página 146.

Tabla 81: Distribución alélica del SNP XPD/ERCC2 en enfermos obesos. Página 146.

Tabla 82: Distribución alélica del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos obesos siguiendo el modelo dominante. Página 147.

Tabla 83: Distribución alélica del SNP XPD/ERCC2 en los enfermos obesos, modelo recesivo. Página 147.

Tabla 84: Distribución de genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la depresión. Página 147.

Tabla 85: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la depresión. Página 147.

Tabla 86: Distribución alélica del SNP XPD/ERCC2 en enfermos depresión. Página 148.

Tabla 87: Distribución alélica del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con depresión, modelo dominante. Página 149.

Tabla 88: Distribución alélica del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con depresión, modelo recesivo. Página 149.

Tabla 89: Distribución de genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la insuficiencia renal crónica significativa. Página 150.

Tabla 90: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la insuficiencia renal crónica significativa. Página 150.

Tabla 91: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la insuficiencia renal crónica ajustados por edad y por sexo. Página 151.

Tabla 92: Distribución alélica del SNP XPD/ERCC2 en enfermos con IRC significativa. Página 151.

Tabla 93: Distribución de los alelos del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con insuficiencia renal significativo siguiendo el modelo dominante. Página 151.

Tabla 94: Distribución de los alelos del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con insuficiencia renal significativa siguiendo el modelo recesivo. Página 152.

Tabla 95: Distribución de genotipos del SNP de p53 en relación con la neoplasia metastásica. Página 152.

Tabla 96: Odds de los diferentes genotipos del SNP de P53 en relación con la neoplasia metastásica. Página 153.

- Tabla 97: Odds de los diferentes genotipos del SNP de P53 en relación con la neoplasia metastásica ajustados por sexo y edad. Página 153.
- Tabla 98: Distribución alélica del SNP P53 en enfermos con neoplasia metastásica. Página 153.
- Tabla 99: Distribución de los alelos del SNP P53 en los enfermos con neoplasia metastásica, modelo dominante. Página 154.
- Tabla 100: Distribución de los alelos del SNP P53 en los enfermos con neoplasia metastásica, modelo recesivo. Página 154.
- Tabla 101: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG16L1 rs2241880 entre nuestra población y un grupo control joven. Página 155.
- Tabla 102: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG2B rs3759601 entre nuestra población y un grupo control joven. Página 156.
- Tabla 103: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG5 rs2245214 entre nuestra población y un grupo control joven. Página 156.
- Tabla 104: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG10 rs1864183 entre nuestra población y un grupo control joven. Página 157.

Introducción

1. INTRODUCCIÓN.

1.1. EVOLUCIÓN DEMOGRÁFICA DE LA SOCIEDAD/REALIDAD DEMOGRÁFICA ACTUAL.

En los países desarrollados la distribución etaria va cambiando, junto a una bajada quizás preocupante de la natalidad, se objetiva un envejecimiento poblacional significativo relacionado con el aumento de la esperanza de vida.

La esperanza de vida ha experimentado notables avances en el último siglo. Esto se ha conseguido gracias a la disminución en la probabilidad de morir debido a los avances médicos y tecnológicos, a la reducción en las tasas de mortalidad infantil, a los cambios en los hábitos nutricionales y del estilo de vida, a la mejora en las condiciones materiales de vida y en la educación, así como en el acceso de la población a los servicios sanitarios.

En España el número de nacimientos se redujo por quinto año consecutivo en 2013, al descender un 6,4%.¹ Durante 2013 nacieron en España 425.390 niños, un 6,4% menos que en el año anterior. Registrando así su quinto año consecutivo de descenso. Desde 2008, cuando nacieron 519.779 niños (el máximo en 30 años), el número de nacimientos se ha reducido un 18,1%. La tasa bruta de natalidad (número de nacimientos por cada mil habitantes) bajó hasta 9,1 desde los 9,7 de 2012. Manteniéndose así la tendencia decreciente iniciada en 2008 (Figura 1).

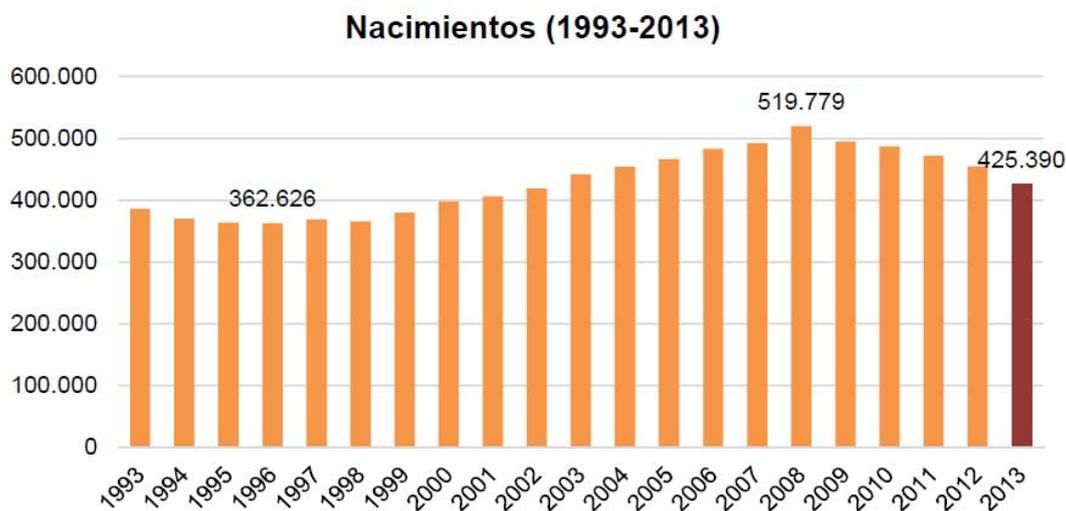


Figura 1: Evolución de los nacimientos en España desde el año 1993 al 2013.¹

Durante 2013 fallecieron en España 389.699 personas, lo que supuso un 3,3% menos que en el año anterior. La tasa bruta de mortalidad se situó en 8,3 defunciones por mil habitantes, frente a los 8,6 de 2012. La tasa de mortalidad infantil descendió hasta 2,8 defunciones por cada mil nacidos. Es la primera vez desde que se dispone de datos que se sitúa por debajo del tres por mil (Figura 2).

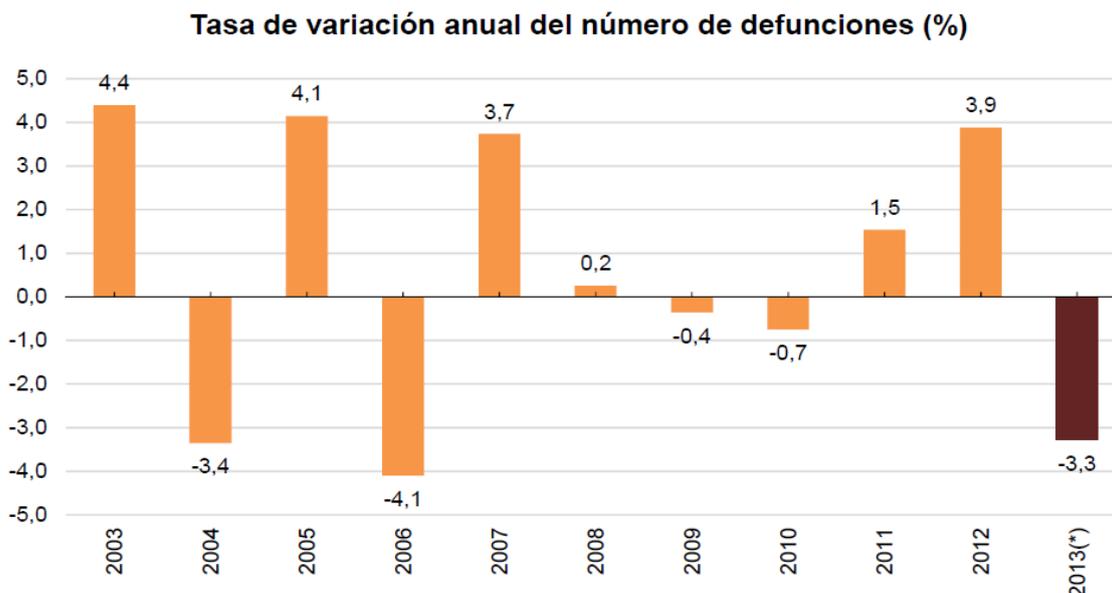


Figura 2.: Variación anual en el número de defunciones del año 2003 al 2013.¹

El saldo vegetativo (nacimientos menos defunciones) fue negativo en siete comunidades autónomas. Seis de ellas (Galicia, Castilla y León, Principado de Asturias, Aragón, Extremadura y Cantabria) ya presentaban saldo negativo en 2012 (Figura 3).¹

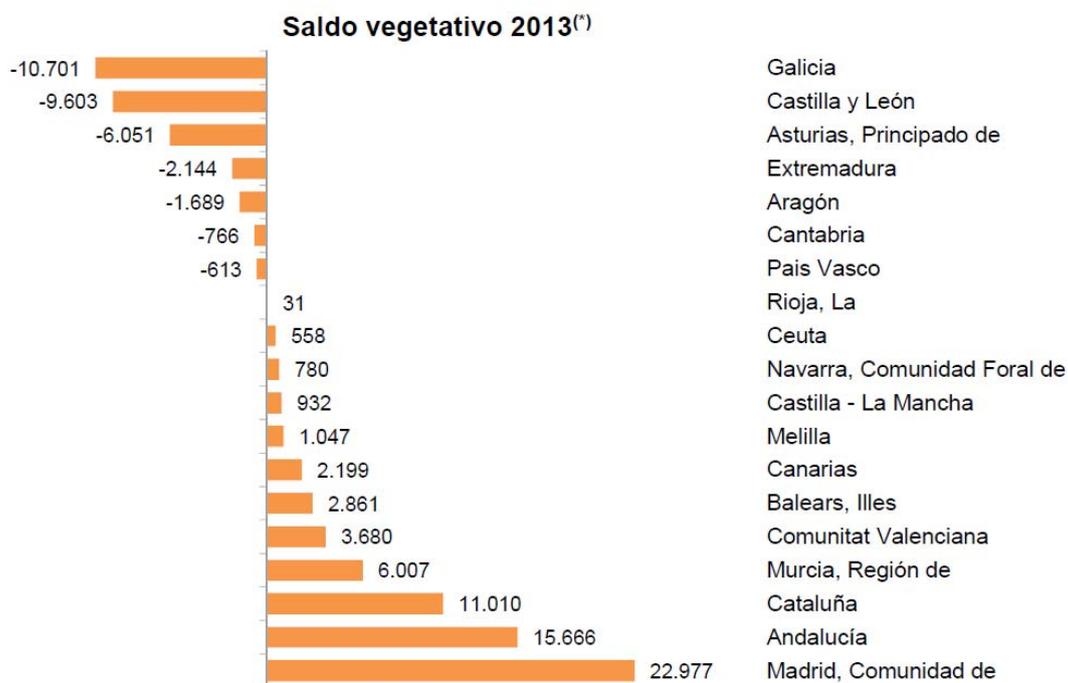


Figura 3.: Saldo vegetativo por comunidades autónomas en el año 2013.¹

La diferencia en años de esperanza de vida al nacimiento a favor de la mujer creció y se mantuvo estable en España hasta mediados de los años noventa, como consecuencia de una mortalidad masculina más elevada debida a factores biológicos, estilos de vida y conductas de

riesgo. Pero esta diferencia a favor de la mujer se ha ido reduciendo ligeramente en las dos últimas décadas, 7,3 años de diferencia a favor de la mujer en el año 1992, 6,8 años en el año 2001 y 5,7 años en el año 2012.

En España entre 1992 y 2012, la esperanza de vida al nacimiento de los hombres ha pasado de 73,9 a 79,4 años y la de las mujeres de 81,2 a 85,1 años, según las Tablas de mortalidad que publica el INE¹. En este período se ha mantenido una diferencia apreciable en la incidencia de la mortalidad por sexos en España y en Europa, originando que la esperanza de vida al nacimiento de las mujeres supere en casi seis años a la de los hombres en el año 2012.

Una característica de las últimas décadas ha sido la mejora de las expectativas de vida en las personas de edad madura y avanzada; en el periodo 1992-2012, el horizonte de años de vida a los 65 años de los hombres ha aumentado en 2,6 años y el de las mujeres en 2,8. A los 85 años, el aumento ha sido de 0,7 años en los hombres y 1,1 años en las mujeres.

En la UE (Unión Europea) en el año 2012, la brecha de género a favor de la mujer en la esperanza de vida al nacimiento era de 5,6 años en la UE-28 y de 6,0 años en España. Para el mismo año, la brecha de género a los 65 años era de 3,4 años en la UE-28 y de 4,1 años en España.

El INE elabora anualmente proyecciones de población a corto plazo (10 años), las últimas publicadas recogen la serie 2013-2022, que se complementan con las proyecciones de población a largo plazo (40 años), últimos datos publicados (2013-2051), que se actualizan cada tres años. Estas proyecciones muestran el efecto que sobre la población futura tendría trasladar la estructura poblacional actual bajo los comportamientos demográficos observados en la actualidad. De mantenerse los ritmos actuales de reducción de la incidencia de la mortalidad por edad en la población de España, la esperanza de vida al nacimiento alcanzaría 81,8 años en los hombres y 87,0 años en las mujeres en el año 2022. Para el año 2051 estos valores serían 86,9 años para los hombres y de 90,7 años para las mujeres.

Por tanto, de mantenerse las tendencias demográficas actuales, la proyección a corto plazo de la esperanza de vida de los hombres supondría un aumento de 2,3 años en el periodo 2013-2022 y la proyección a largo plazo un aumento de 7,5 años en el periodo 2013-2051. En el caso de las mujeres, los incrementos en esperanza de vida serían ligeramente inferiores: 1,7 años en el periodo 2013-2022 y 5,6 años en el periodo 2013-2051, dando origen a una disminución en la brecha de género (diferencia entre las esperanzas de vida de mujeres y de hombres) según las proyecciones de población a largo plazo.

En la proyección a largo plazo de la esperanza de vida a los 65 años, en el año 2051 la esperanza de vida de los hombres alcanzaría un valor de 24,0 años y en las mujeres un valor de 27,3 años, casi seis y cinco años más que en la actualidad. Según las proyecciones a corto plazo de la esperanza de vida a los 65 años, el aumento sería de 1,5 años en el periodo 2013-2022, tanto para hombres como para mujeres.¹

Estos cambios demográficos dan una idea del envejecimiento actual y futuro de la población que tiene y tendrá más aún si cabe su reflejo en la población hospitalaria. Los Servicios de Medicina Interna en los que la pluripatología tiene un peso considerable muestran como no podía ser de otra manera un envejecimiento poblacional de primera magnitud.

1.2. CARACTERÍSTICAS DEL ENVEJECIMIENTO.

El envejecimiento no es un proceso homogéneo. En él influyen diferentes factores; genéticos, ambientales, estilos de vida y biológicos que disminuyen la reserva fisiológica e incrementan la vulnerabilidad.^{2,3} El componente genético, bien establecido en enfermedades concretas, tiene un peso significativo en dicho proceso.

Establecer la causa por la que cierta población centenaria evita o retrasa gran número de enfermedades,⁴ manteniendo un buen estado de salud hasta momentos previos a su fallecimiento podría ayudarnos a entender la fisiopatología de ciertas enfermedades como el ictus, la insuficiencia cardíaca, el cáncer o la enfermedad de Alzheimer.⁵

Es muy posible que los factores genéticos y ambientales interactúen entre sí: en Italia, la proporción de varones centenarios varía según la región, habiéndose observado una relación de 2 a 1 en Sardinia, siendo la proporción de 7 a 1 en el norte de Italia.⁶ Okinawa en Japón tiene la mayor proporción de centenarios del mundo. Dicha longevidad se ha atribuido a un estado nutricional excelente basado en una dieta de restricción proteica, similar a las dietas que han demostrado un aumento de la longevidad del 50% en modelos murínicos.⁷ No obstante, estudios de base familiar en dicha población favorecen la posibilidad de un componente genético asociado.⁸ La longevidad extrema femenina probablemente depende menos de factores genéticos que en el varón estando más relacionada con un mejor estilo de vida y mejores factores ambientales.

Una de las principales preocupaciones del ser humano, más allá de la longevidad, es vivir con calidad de vida, autonomía y exento de enfermedades relevantes. Si bien la edad se asocia a incremento de achaques físicos, mayor riesgo de enfermedades intercurrentes, deterioro físico e intelectual, trastornos del estado de ánimo, aumento del uso de medicación..., no todos los ancianos envejecen de la misma manera, observándose diferentes fenotipos clínicos en este proceso de envejecimiento⁹⁻¹¹

1.3. FENOTIPOS DE ENVEJECIMIENTO.

Desde el anciano saludable hasta el dependiente, existen unos fenotipos intermedios con diferentes grados de fragilidad que hacen al anciano más vulnerable e incrementan el riesgo de complicaciones (ingresos hospitalarios, dependencia y, finalmente, muerte).¹²⁻¹⁵

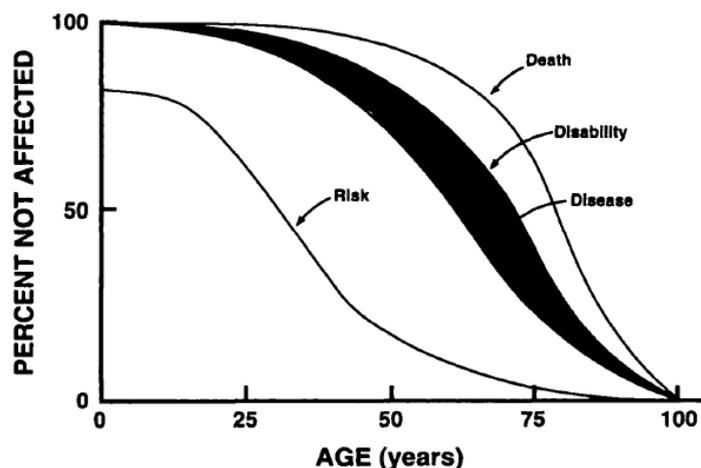
La *longevidad* se ha definido en diferentes estudios como aquellos individuos \geq de 85 años, siendo considerados como excepcionalmente longevos aquellos \geq de 95 años.¹⁶

En los diferentes estudios realizados sobre el envejecimiento, se han descrito diferentes fenotipos de envejecimiento, algunos seleccionados con cierta subjetividad: así hay estudios que describen el envejecimiento saludable como el de aquellas personas de edad avanzada, sin evidencia de comorbilidades relevantes (casi siempre se suelen incluir enfermedades cardiovasculares, neurológicas degenerativas y oncológicas por el peso de estas 3 entidades en la mortalidad asociada al envejecimiento), ausencia de polifarmacia y buena calidad de vida.

Por otra parte existen ciertos fenotipos de envejecimiento bien definidos, estudiados y aceptados por la comunidad científica que a continuación referimos.

1.3.1. ENVEJECIMIENTO USUAL.

El *envejecimiento usual* como un concepto de envejecimiento habitual en el que los factores de riesgo exógeno influyen en la presencia de enfermedad, discapacidad y finalmente la muerte fue acuñado por Rowe y cols.^{17,18} El acúmulo de edad, enfermedad o comorbilidades se va asociando de forma progresiva a incremento de la discapacidad, dependencia y finalmente muerte en la mayoría de los humanos a lo largo de su vida, lo que realza el peso de los factores ambientales sobre el envejecimiento en contraposición con los enfermos con envejecimiento saludable en los que los factores exógenos juegan un papel neutral o positivo (Figura 4).¹⁷



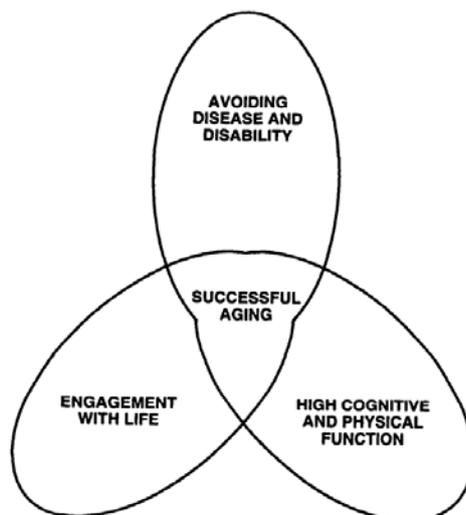
La figura muestra el incremento de riesgo de enfermedad, desarrollo de enfermedad establecida, discapacidad y finalmente de muerte, con el envejecimiento. En el eje de ordenadas se refleja el porcentaje de población libre de afectación para dicha entidades y en el de abscisas la edad.

Figura 4: Modelo de envejecimiento usual.¹⁸

1.3.2. ENVEJECIMIENTO SALUDABLE.

Dentro de dicha terminología asociada al envejecimiento, encontramos definiciones como *envejecimiento saludable*; que englobaría a aquellos enfermos ancianos libres de enfermedades crónicas y que continúan funcionalmente bien, tanto física como cognitivamente.¹⁹

Distintos elementos teóricos han sido considerados en las definiciones conceptuales, de los cuales se pueden distinguir dos tendencias; la primera engloba a aquellos que ven la salud como un proceso dinámico y definen el envejecimiento saludable como un proceso continuo de adaptación positiva a los cambios individuales que ocurren con el paso de los años.²⁰ La segunda, considera el envejecimiento exitoso como un estado de bienestar objetivable que incorpora tres componentes principales: baja probabilidad de enfermedad y discapacidad asociada, alta funcionalidad cognitiva y física, y compromiso con la vida (Figura 5).¹⁸



El envejecimiento saludable viene definido por la ausencia de enfermedad y discapacidad, una buena función física y cognitiva y el desempeño para actividades de relación.

Figura 5: Modelo de envejecimiento saludable.¹⁸

Este concepto, planteado por Rowe y Kahn,¹⁸ considera la élite de las personas mayores en términos de salud global, más que como la mera ausencia de enfermedad, y se acerca a la definición planteada por la Organización Mundial de la Salud que considera la “salud” como el estado de completo bienestar físico, mental y social. Sin embargo, aún éste, es un concepto teórico difícil de aplicar en la práctica clínica.²¹ Cada una de esos 3 componentes que engloban el envejecimiento saludable, incluyen varios subgrupos; la baja probabilidad de enfermedad se refiere no solo a la ausencia de enfermedad sino a la ausencia, presencia o severidad de factores de riesgo para padecerla. El alto nivel funcional incluye el nivel físico y psíquico, estos a su vez son esenciales para la actividad: “dime lo que una persona hace, no lo que es capaz de hacer”. El envejecimiento saludable, por lo tanto, va más allá del potencial y engloba la actividad, mientras que el compromiso activo adquiere muchas formas, aunque las más importantes son las relaciones interpersonales y la actividad productiva. Las relaciones interpersonales implican contacto con terceros, intercambio de información, relaciones emocionales y asistencia directa.¹⁸

Una actividad se considera productiva si tiene valor social, aunque no sea retribuido. Por ejemplo aquel que cuida de un familiar o que trabaja como voluntario en una ONG (organización no gubernamental).

La OMS (Organización mundial de la salud) en la última definición de envejecimiento saludable recalca la importancia de mantener una actividad productiva que no siempre se relaciona con desempeño de trabajo concreto, pudiendo realizarse tareas lúdicas o colaboraciones con asociaciones de ayuda a terceros.

A partir del año 2002 dicha organización comienza a acuñar el término *envejecimiento activo*, entendiéndose por el mismo el proceso de optimizar las oportunidades de salud, participación y seguridad, en orden a mejorar la calidad de vida de las personas que envejecen.

1.2.3. OTROS SUBTIPOS DE ENVEJECIMIENTO POSITIVO.

Otras definiciones similares engloban el *anciano esencialmente sano*, siendo estos los que no presentan enfermedad aguda, historia reciente de cáncer, se mantienen normotensos y cuyas enfermedades crónicas se encuentran estables.²² Definiéndose los *excepcionalmente sanos* como aquellos que no toman medicación, carecen de enfermedad crónica, son normotensos y presentan un índice de masa corporal normal.

1.3.4. FRAGILIDAD.

1.3.4.1. DEFINICIÓN Y CONCEPTO DE FRAGILIDAD.

La fragilidad es un síndrome clínico que representa un continuo desde el adulto mayor saludable hasta aquel extremadamente vulnerable en alto riesgo de morir y con bajas posibilidades de recuperación.

Conceptualmente hablando, es entendida como un estado de deterioro final y vulnerabilidad caracterizado por debilidad y disminución de la reserva fisiológica. Los enfermos frágiles tienen menos capacidad de adaptación ante situaciones críticas o de estrés. Este incremento de la vulnerabilidad contribuye al aumento de caídas, institucionalización, discapacidad y finalmente muerte que se observa en estos ancianos.²³

Los ancianos frágiles suponen un desafío médico ya que son enfermos médicamente complejos con gran número de síntomas y peor tolerancia a cualquier tipo de intervención.

No existe una única definición aceptada de fragilidad.²⁴ La mayor parte de las definiciones describen un síndrome caracterizado por una marcada pérdida de funcionalidad, fuerza y reserva fisiológica que conlleva un aumento de la vulnerabilidad e incremento de la morbi-mortalidad. La conferencia de la Asociación Americana de Geriátrica/Instituto Nacional de la Ancianidad del año 2004 versada sobre la fragilidad describe a esta como “un estado de incremento de la vulnerabilidad ante situaciones de estrés debido a un deterioro relacionado con la edad que conlleva pérdida de la reserva fisiológica tanto a nivel neuromuscular, como metabólico, como inmune”. Otras definiciones incluyen alteraciones de la movilidad, fuerza, resistencia, nutrición y actividad física.²⁵ En otras ocasiones se ha utilizado un compendio de carga médica, fisiológica, cognitiva y factores sociales para calcular un índice de fragilidad que caracterice a dichos enfermos.²⁶

Así, a lo de la historia del concepto se han usado distintos criterios para definirlo: criterios médicos (presencia de enfermedades crónicas, alteración de la marcha, déficit sensoriales, mala auto percepción de salud, caídas de repetición, polifarmacia, hospitalizaciones frecuentes), criterios funcionales (dependencia en actividades básicas de la vida diaria [ABVD] y dependencia en actividades instrumentales de la vida diaria [AIVD]), criterios socioeconómicos (vivir solo, viudez reciente, edad >80 años, bajos ingresos económicos), criterios cognoscitivos/afectivos (depresión, deterioro cognitivo) y, por último, el criterio de necesitar institucionalización.

A pesar de que la edad, las comorbilidades y la discapacidad se asocian ocasionalmente a la fragilidad, o al incrementando de la posibilidad de desarrollarla, esta se puede presentar de forma independiente a las mismas, por lo que en las definiciones de fragilidad no se encuentran

incluidas, siendo por ejemplo la discapacidad el resultado de la fragilidad más que un componente de la misma.^{3,12}

Muchas definiciones de fragilidad no incluyen la valoración cognitiva,²⁷ aunque dicha actitud se encuentra bajo debate.²⁴ Una revisión de 22 artículos sobre la definición de fragilidad demostró que los principales términos utilizados en dicha definición incluyen el estado físico, la velocidad de la marcha y el nivel cognitivo. Así mismo, la fragilidad física se asocia con incremento del deterioro cognitivo y aumento del mismo en relación con la edad.²⁸ Por otra parte, el deterioro cognitivo incrementó la posibilidad de eventos adversos en población geriátrica frágil, lo que da una idea de lo imbricado de ambos términos.

Dentro de las diferentes definiciones de fragilidad las más frecuentemente utilizadas son: el fenotipo de Fried validado en el Cardiovascular Health Study (CHS), el Estudio de fracturas osteoporóticas y el Índice de Fragilidad de Rockwood. Los estudios comparativos entre las diferentes definiciones han demostrado resultados similares en cuanto a evolución y mortalidad.^{29,30}

No obstante, la gran mayoría de los estudios biológicos sobre fragilidad se han realizado bajo la definición del fenotipo Fried.

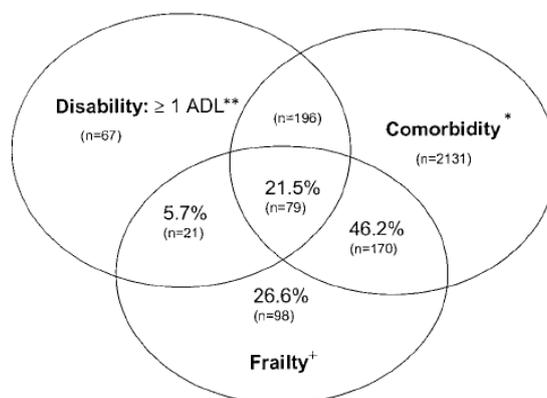
Linda Fried, publicó los resultados del seguimiento de 5317 personas mayores, entre 65 y 101 años, seguidos durante 4 y 7 años, parte de la cohorte del estudio Cardiovascular Health Study, en quienes definió la *fragilidad* de acuerdo a la presencia de al menos 3 de 5 criterios:¹² sentimiento de agotamiento general, debilidad, inactividad, disminución de la velocidad de la marcha y pérdida de peso (Figura 6).

A. Characteristics of Frailty	B. Cardiovascular Health Study Measure*
Shrinking: Weight loss (unintentional) Sarcopenia (loss of muscle mass)	Baseline: > 10 lbs lost unintentionally in prior year
Weakness	Grip strength: lowest 20% (by gender, body mass index)
Poor endurance; Exhaustion	"Exhaustion" (self-report)
Slowness	Walking time/15 feet: slowest 20% (by gender, height)
Low activity	Kcals/week: lowest 20% males: <383 Kcals/week females: <270 Kcals/week
	C. Presence of Frailty
	Positive for frailty phenotype: ≥3 criteria present
	Intermediate or prefrail: 1 or 2 criteria present

Se exponen 2 columnas. En la columna de la izquierda, las características de la fragilidad que incluye la retracción (pérdida de peso injustificada o sarcopenia), debilidad, disminución de la resistencia: cansancio, lentitud y baja actividad. En la columna de la derecha la medidas recogidas en el CHS: Pérdida de peso > a 10 libras (Unos 4,5 Kg) en el año previo, puntuación < 20% en la prueba de fuerza de prensión del antebrazo, sensación de cansancio injustificado, lenta velocidad de la marcha en la prueba de caminar durante 15 pies (4.5 metros) y bajo nivel de actividad física: menor del 20% de la estimada para edad y sexo (Varones <383 Kcal/semana, mujeres < 270 Kcal/semana). Fragilidad definida por 3 o más, prefrágil o intermedio 1 o 2

Figura 6: Criterios de fragilidad incluidos en el estudio de Fried.¹²

Este estudio identificó un 7% de la muestra como frágil, asociándose dicha fragilidad con un mayor riesgo de caídas, deterioro funcional, hospitalización y muerte. Además, se pudo demostrar que el grupo frágil se diferenciaba del grupo con discapacidad (definido como limitación en, al menos, una ABVD medido mediante el índice de Katz) y del grupo con comorbilidad (presencia de al menos 2 enfermedades determinadas). A pesar de existir sobreposición entre estos 3 grupos, el 27% de la muestra era frágil exclusivamente y un 21% tenía las tres condiciones (Figura 7).



Resultados obtenidos en el estudio de Fried y en el que se distinguen 3 poblaciones bien definidas y aunque interrelacionadas entre si diferentes: Frágiles, Discapacitados y comórbidos.

Figura 7: Relación entre la comorbilidad, la discapacidad y la fragilidad.¹²

La definición utilizada en el estudio del índice de fracturas osteoporóticas es más fácil de llevar a la práctica clínica que el fenotipo Fried. El índice se define por la presencia de 2 de los siguientes 3 criterios; pérdida de peso > 5% del peso corporal en el último año, incapacidad para levantarse de la silla sin necesidad de ayudarse de los brazos en 5 ocasiones y una respuesta negativa a la siguiente pregunta; ¿Siente plena energía?.²⁹

El índice de fragilidad de Rockwood consta de 70 variables que incluyen desde condiciones médicas hasta deterioro funcional. Cuanta mayor puntuación se obtenga mayor el ser el grado de fragilidad. Se trata de un índice que ha calibrado correctamente la posibilidad de muerte a través de datos recogidos de historia médica electrónica más que a través de datos físicos, no habiéndose validado su utilidad en estudios biológicos ni en estudios de implementación de medidas sobre enfermos frágiles³¹.

Otras escalas de fragilidad se han basado en modificaciones de las previas, principalmente del fenotipo Fried. Un estudio europeo que comparó 8 escalas de fragilidad (Estudio SHARE-Survey of Health, Ageing and Retirement in Europe)³², encontró una prevalencia de la misma en la población estudiada que oscilaba entre el 6-44%. Algunas de las escalas utilizadas en dicho estudio fueron el índice de fragilidad de Gröninger, el de Tilburg, la Escala Clínica de Fragilidad y la escala de Edmonton.

1.3.4.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LA FRAGILIDAD.

La capacidad de las escalas de fragilidad para calibrar la posibilidad de acontecimientos adversos en la población anciana es amplia. En los últimos años se han realizado numerosos estudios de este tipo: estudios relacionados con la respuesta a la vacunación antigripal,³³ con el pronóstico y complicaciones relacionadas con trasplante renal³⁴ o intervenciones quirúrgicas.³⁵

La prevalencia de fragilidad en los estudios realizados varía conforme a la definición utilizada para su caracterización, oscilando desde el 7% referido en el CHS al 11.3% del Women's Health and Aging Population.³⁶ Dicha prevalencia se incrementa con la edad, siendo esta de hasta el 30% de la población mayor de 90 años,³⁷ oscilando así mismo entre el 9.9%, cuando en los criterios de definición utilizamos básicamente criterios físicos y el 13.6%, cuando utilizamos factores psicosociales.

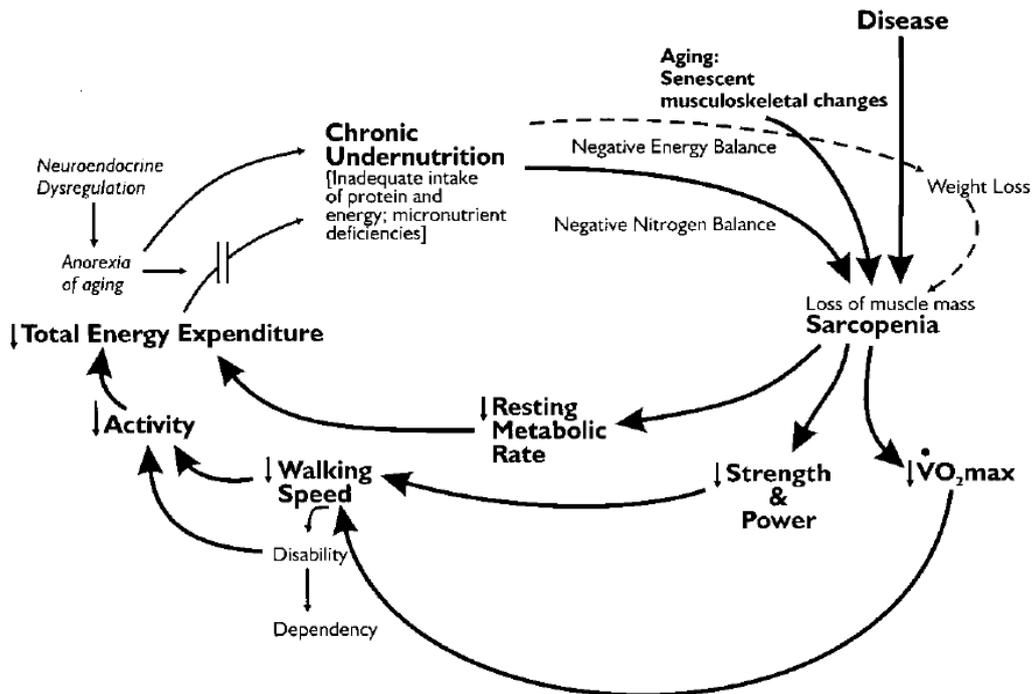
En el estudio Women's Health Initiative Observational Study, que incluyó a 40000 mujeres con edades entre 65 y 70 años, al inicio del mismo se clasificaron como frágiles un 16.3% y como prefrágiles un 28.3%.³⁶ La incidencia de fragilidad a los 3 años fue del 14.8%, encontrándose como factores favorecedores de fragilidad: la ancianidad, el bajo nivel educacional, el tabaquismo y el tratamiento hormonal activo. En dicho estudio la fragilidad se asoció a un incremento de la mortalidad, del riesgo de fracturas de cadera, desarrollo de discapacidad y hospitalización, tras haber ajustado las comorbilidades.

Otro estudio realizado en Estado Unidos en cerca de 6000 varones residentes en la comunidad de 65 años de edad, encontró un 4% de enfermos frágiles, 40% de prefrágiles y 56% de "robustos".³⁸ La fragilidad se definió siguiendo los criterios de Fried, excepto que se sustituyó el concepto de pérdida de peso por baja masa esquelética apendicular. En dicho estudio la fragilidad fue más prevalente en población afroamericana y asiática que en caucasianos e hispanos. Encontrándose nuevamente un incremento del riesgo de mortalidad (el doble que la población considerada "robusta"), asociándose la misma con la edad avanzada, la soltería y el bajo nivel educacional.

Otros factores que aumentan la posibilidad de fragilidad son la discapacidad intelectual; la prevalencia en dicha población en edades comprendidas entre 50 y 64 años fue la misma que en la población general mayor de 65 años³⁹, la depresión y el uso de medicación antidepressiva⁴⁰, si bien en algún estudio como el inicial de Fried dichos enfermos fueron excluidos por considerarse motivo de posible sesgo.

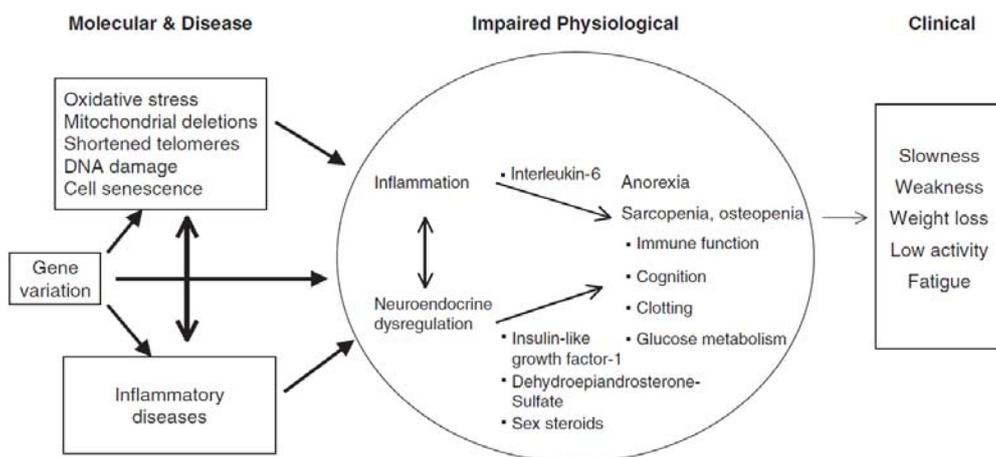
1.3.4.3. FISIOPATOLOGÍA DE LA FRAGILIDAD.

En cuanto a la fisiopatología de la fragilidad, la desregulación de múltiples sistemas fisiológicos, especialmente los sistemas de respuesta al estrés parecen ser la clave. Esta desregulación a su vez parece relacionada con cambios moleculares, genéticos y enfermedades específicas asociadas al envejecimiento (Figura 8).²⁶



Se explica la relación y el ciclo por el cual se establece la sarcopenia a partir de la desnutrición crónica, el envejecimiento o la enfermedad y como esta, produce una disminución del consumo de O_2 , de la fuerza muscular, de la velocidad de la marcha y del metabolismo basal, con la consecuente pérdida de actividad y de energía total lo que favorece nuevamente los factores iniciales.

Figura 8: Ciclo de la fragilidad, con la sarcopenia como actor principal.¹²



Teorías sobre el desarrollo de la fragilidad: En la columna de la izquierda se exponen factores moleculares (estrés oxidativo, deleciones mitocondriales, acortamiento de los telómeros...) y enfermedades inflamatorias, estas a su vez influyen en el deterioro físico (recogido en la columna del medio), en el que se definen una serie de mecanismos y vías implicadas, para finalmente desarrollar fragilidad que se expresa clínicamente como por la presencia de lenta velocidad, debilidad, pérdida de peso, baja actividad y fatiga (recogidas en la columna de la derecha).

Figura 9: Fisiopatología de la fragilidad.²⁶

A través de estudios basados en modelos de enfermos con cáncer y artritis reumatoide donde la debilidad y la fatiga son síntomas comunes, se ha propuesto que ciertas anomalías fisiológicas específicas contribuyen a los síntomas de fragilidad, entre las que destacan alteraciones inflamatorias y endocrinas que favorecen el deterioro muscular.

La sarcopenia es un factor fisiopatológico clave en el desarrollo de fragilidad. Dentro de las alteraciones endocrinas, la disminución de los niveles de IGF-1 (Insulin growth factor tipo 1- Factor de crecimiento insulínico tipo 1) y DHEA-s (Dehidroepiandrosterona sulfato) así como los altos niveles de cortisol^{41,42} y de citoquinas inflamatorias⁴³ se relacionan directamente con el desarrollo de sarcopenia y, en el último grado, con la fragilidad (Figura 9).

Otras alteraciones endocrinas relacionadas con la fragilidad son la disminución de esteroides sexuales relacionados con la edad,^{44,45} aunque dicha relación depende del tipo de hormona en cuestión; por ejemplo los niveles de testosterona total y libre no se relacionan con el riesgo de fragilidad⁴⁶ a pesar de que si lo hacen con la disminución de la fuerza muscular y de la actividad física, los bajos niveles de la globulina fijadora de las hormonas sexuales (SHBG) sin embargo se asocian a un incremento de la fragilidad.⁴⁶

Igualmente, los bajos niveles de Vitamina D3 (25 (OH) D) se asocian fuertemente al desarrollo de fragilidad.⁴⁷ El tratamiento reposicional de dicho déficit se ha asociado a preservación de la fuerza muscular pudiendo desarrollar un papel esencial en la prevención y el tratamiento de la fragilidad.⁴⁸

Otros de los factores fisiopatológicos de mayor peso en el desarrollo de fragilidad corresponden a las alteraciones del sistema inmune relacionadas con la inflamación. En varios estudios sobre fragilidad se ha visto que los niveles de IL-6 (Interleuquina 6), PCR (Proteína C reactiva), leucocitos y monocitos son mayores en dicha población.^{41,47,49,50} La IL-6 actúa como un factor de

transcripción y como transductor de señales que interfiere negativamente en la musculatura, el apetito, la respuesta funcional adaptativa inmune y la cognición⁵¹, así mismo la elevación persistente de la IL-6 contribuye al desarrollo de anemia.^{52,53} Por otra parte la activación del sistema inmune podría activar la cascada de la coagulación, habiéndose observado asociación entre la fragilidad y los niveles de factor VIII, fibrinógeno y dímeros-d.⁴⁹

En relación a la respuesta al estrés y las alteraciones en los sistemas metabólicos, se ha observado relación entre la fragilidad y la desregulación autonómica.⁵⁴ Además, ciertos cambios en el eje renina-angiotensina y a nivel mitocondrial se relacionan con sarcopenia e inflamación.⁵⁵

Cada día contamos con más evidencia científica que relaciona la fragilidad con la desregulación inmune, alteraciones endocrinas, estrés y con los sistemas de respuesta energética.

Los mecanismos subyacentes en el deterioro fisiológico multisistémico relacionado con la fragilidad son desconocidos actualmente, se piensa que la variación genética y los cambios moleculares relacionados con la edad podrían proporcionar información básica sobre el deterioro fisiológico observado en estos sistemas implicados. Siendo la senectud celular, la pérdida de las estructuras teloméricas, la disfunción mitocondrial, el incremento en la producción de radicales libres y las alteraciones en la capacidad reparativa del DNA algunos de los factores relacionados con mayor posibilidad (Figura 9).²⁶

La investigación en esta área, hasta hora no especialmente desarrollada en el ámbito de fragilidad, abre una puerta esencial de futuro conocimiento.

La mitocondria es una organela intracelular presente en todos los tipos celulares. Se trata de un órgano esencial en la formación de energía a través de la fosforilación oxidativa, dicho estrés oxidativo es fundamental en el desarrollo de cambios del DNA mitocondrial relacionados con el envejecimiento, lo que a su vez se ha relacionado con la disfunción de las proteínas mitocondriales, y finalmente con el aumento de la producción de radicales libres como los radicales superóxido. El curso de este progresivo daño mitocondrial no es probablemente lineal, sino que está relacionado de manera clara con la cuantía del daño del DNA. La producción crónica de altos niveles de radicales libres y el consiguiente incremento del potencial redox intracelular, podría desencadenar una alteración del perfil genético y un daño sobre las estructuras lipídicas y proteínicas.⁵⁶ Por otra parte, el incremento de los niveles de radicales libres de hidrógeno peroxidada desencadenan la activación inflamatoria y la transcripción de biomedadores a través de la vía NF- κ B (Nuclear factor kappa B).⁵⁷ La generación de radicales libres puede así mismo resultar tóxica para otros elementos celulares; el DNA genómico se encuentra habitualmente expuesto a altos niveles de estrés oxidativo lo que podría facilitar la rotura de estructuras del DNA, con la formación subsecuente de proteínas anómalas y finalmente conducir a una alteración de la expresión genómica a nivel tisular.⁵⁸

El desarrollo de conocimiento en relación con la biología de los telómeros constituye un potencial campo en el conocimiento de la biología relacionado con la fragilidad. El telómero consiste en una secuencia de DNA repetida y de proteínas especializadas que protegen la parte final de los cromosomas. Con el envejecimiento y la división celular, dichas estructuras se van acortando y en último extremo podrían ser responsables de cierto daño del DNA, desencadenar apoptosis, ser responsables de la senectud celular o desencadenar inestabilidad genómica y proteínas anómalas.⁵⁹ Estudios sobre envejecimiento han demostrado que aquellos ancianos que poseen un acortamiento telomérico en relación con aquellos que no, tienen una supervivencia media inferior de unos 5 años.⁶⁰ Aunque el mecanismo exacto por el que el acortamiento de los

telómeros se relaciona con mortalidad precoz no está totalmente dilucidado, el desarrollo de estudios de fisiopatología molecular y tisular mediante los cuales se observa dicho acortamiento podría ser aplicable para el conocimiento de la biología de la fragilidad.

El estrés oxidativo, la reparación del daño del DNA relacionado con dicho estrés o con factores ambientales y la disfunción de los telómeros pueden inducir envejecimiento celular.¹⁰ La senectud celular generalmente conlleva una parada de crecimiento irreversible aunque por otra parte se trata de un mecanismo de resistencia a la apoptosis.

Existe una evidencia cada vez mayor mediante la cual se observa como las células seniles presentan una alteración funcional no siendo meros observadores pasivos del proceso metabólico, a ese respecto se sabe a través de estudios investigacionales que los fibroblastos seniles son responsables de la parada del crecimiento y de la ausencia de diferenciación de las células epiteliales, y que potencialmente promueven el desarrollo de entidades morbosas como el cáncer.²⁶ Además estos fibroblastos seniles segregan citoquinas inflamatorias que podrían relacionarse fisiopatológicamente con la fragilidad.

Finalmente, las variaciones genéticas en cientos de genes podrían influir en el desarrollo de fragilidad. Los raros síndromes de envejecimiento prematuro relacionados con alteraciones en los defectos de la reparación del DNA (síndrome de Werner) o en anomalías de los telómeros (disqueratosis congénita) podrían favorecer el desarrollo investigacional de potenciales modelos de estudios genético en el área de la fragilidad.²⁶ Actualmente existe la posibilidad de desarrollar estudios en cientos de genes relacionados con las diferentes vías fisiopatológicas implicadas (cascada inflamatoria, sistema endocrino...)

El papel del óxido nítrico (NO) y de los RNS (radicales nitrogenados) en relación con el estrés oxidativo y a su vez con el proceso de envejecimiento está bien establecido,⁶¹⁻⁶³ observándose un aumento de los marcadores del daño nitrogenado como la nitrosilación y la nitración de proteínas.^{64,65} Un número creciente de estudios han demostrado que la capacidad y la actividad biológica del óxido nítrico se deterioran con la edad, lo que podría resultar clave en el desarrollo de ciertos fenotipos asociados al envejecimiento así como en el envejecimiento vascular y cerebral.⁶⁶⁻⁶⁸

El aumento de la producción de O₂ que se observa durante el envejecimiento unido a un decremento de los sustratos y cofactores esenciales de la NOS (Nitric oxide synthase-sintetasa del óxido nítrico) podría afectar la biodisponibilidad del NO. La disminución en la actividad y la expresión de la NOS asociada al envejecimiento contribuye a las alteraciones en la señalización del NO lo que finalmente se asocia a fallos en múltiples procesos biológicos.^{69,70}

Dicha evidencia relacionada con la NOS se han establecido a través de estudios "knockout", observándose, por ejemplo, que la ausencia de las 3 isoformas de NOS en estos ratones se asocia a una reducción de la supervivencia del 80%.⁷¹ En otros estudios similares se ha observado una reducción de la supervivencia del 50% con la consiguiente atenuación en la supervivencia incrementada por la restricción calórica.^{72,73}

Ciertos polimorfismos relacionados con la NOS (NOS1 rs1879417 y NOS2 rs2297518) se han asociado a la longevidad y al desarrollo de ciertos fenotipos de envejecimiento.¹¹ NOS1 rs1879417-C se asoció a disminución de la longevidad y a un peor nivel cognitivo (MMSE <23 puntos). En relación con dicho hallazgo existen varias evidencias científicas que lo avalan. Así, se sabe que la vía del glutamato-NO-cGMP juega un papel importante tanto en el proceso de

memoria como en el de aprendizaje, así como en el desarrollo cognitivo durante el envejecimiento.^{74,75} Estudios con ratones han demostrado que aquellos que carecen de NOS1 tienen limitaciones cognitivas⁷⁶⁻⁷⁸ y se han observado cambios en la expresión y/o en la actividad del NOS1 en diferentes áreas cerebrales de ratones longevos con deterioro cognitivo.⁷⁹ Así mismo, rs1879417 se encuentra localizada en la región promotora del NOS1, lo que favorece un frágil complejo transicional regulatorio.⁸⁰ Otros polimorfismos en esta región que afectan a la expresión genética y a la transcripción neuronal, se han relacionado con diferentes entidades que afectan a la cognición como la enfermedad de Alzheimer y la esquizofrenia.⁸¹

El polimorfismo NOS2 rs2297518 se asoció con el desarrollo de debilidad muscular a través de la fuerza de presión del antebrazo ("Hand grip strength test"),¹¹ lo que a su vez se encuentra avalado científicamente por el hecho de que el incremento NOS2/NO/ONOO inducido a través de la vía TNF α (tumor necrosis factor alpha-factor de necrosis tumoral alfa) o NF κ B (nuclear factor kappa B) se ha asociado al desarrollo de sarcopenia.

1.3.4.4. INTERVENCIÓN Y CUIDADOS EN LOS ENFERMOS FRÁGILES.

En cuanto a las intervenciones dirigidas a prevenir o tratar la fragilidad, los estudios a este respecto son escasos. Un estudio randomizado, interdisciplinario, consistente en visitas domiciliarias, terapia física y ocupacional comparado con los cuidados habituales no demostró diferencias significativas en el desarrollo de discapacidad a 6 meses, 1 y 2 años.⁸²

Se cree que el ejercicio es la intervención más eficaz para mejorar la calidad de vida y el nivel funcional de los ancianos. El ejercicio físico en dicha población ha demostrado mejoría de la movilidad, mejoría en la realización de actividades de la vida diaria, en la capacidad de la marcha, con disminución de las caídas e incremento de la densidad mineral ósea y de la sensación de bienestar.^{83,84} El ejercicio físico combinado con la pérdida de peso en los obesos adultos ha demostrado mayor impacto en la prevención de la fragilidad (fuerza muscular, equilibrio, consumo pico de O₂, mejoría en los test físico) que una intervención aislada.⁸⁵

Diferentes estudios han demostrado que incluso los enfermos más frágiles se benefician de programas de ejercicio físico. Un programa de entrenamiento de resistencia realizado con población institucionalizada en residencia con una media de edad de 87 años se asoció a una mejoría de la fuerza muscular y a un ligero, aunque significativo, aumento de masa muscular y de la velocidad de la marcha.⁸⁶ El beneficio del soporte nutricional se ha observado exclusivamente en aquellos programas que conllevan un incremento asociado del ejercicio físico. Incluso programas de ejercicio con poca intensidad como podrían representar la realización de entrenamiento de resistencia 2 veces por semana,⁸⁷ o andar tan solo 2 Km en un periodo de una semana han demostrado beneficio objetivo en parámetros incluidos dentro de la definición de fragilidad.⁸⁸

En cuanto a las actuaciones relacionadas con el mecanismo inflamatorio y las alteraciones endocrinas involucradas en la fragilidad, los resultados no son tan claros, ni se han realizado muchas veces específicamente en dicha población:

- El reemplazamiento de testosterona se ha asociado a un incremento de la masa y de la fuerza muscular en varones hipo y eugonadales, sobre todo cuando se combina con ejercicio físico. Sin embargo, la testosterona podría tener un efecto desfavorable desde

el punto de vista de perfil lipídico así como incrementar el riesgo de patología prostática.^{89,90}

- El tratamiento sustitutivo con hormona de crecimiento no ha demostrado eficacia en la mejoría funcional de la población anciana con deterioro asociado a la edad.⁹¹
- El tratamiento con DHEA-s en la prevención y la mejoría de la fragilidad tampoco ha demostrado beneficio.⁹²
- La suplementación con vitamina D3 es eficaz en la prevención de caídas y en la mejoría del equilibrio. Un estudio ha demostrado que los bajos niveles de vitamina D3 son más frecuentes en la población frágil, pero no predicen el desarrollo de fragilidad a medio plazo, una vez que la vitamina D3 está involucrada en el mantenimiento del tropismo muscular y nervioso: pudiera ser una intervención esperanzadora en esta población, aunque serán necesarios más estudios que confirmen esta hipótesis.⁹³

Se ha demostrado que una intervención multidisciplinaria dirigida a este tipo de enfermos resulta claramente beneficiosa.⁹⁴ Dichos cuidados consisten en la valoración conjunta por parte de médico y enfermera, con labor interconsultora por parte de un trabajador social, realizándose reuniones periódicas para discusión de casos problema, ajustes físicos del entorno, integración de medios electrónicos (registros médicos informatizados, correo electrónico...), interrelación con residencias de ancianos y cuidados ambulatorios.

Otros cuidados específicos son:

Valoración geriátrica integral: Los objetivos de dicha valoración son mejorar la actividad física y psíquica, conciliar la medicación, disminuir la institucionalización, las hospitalizaciones y la mortalidad, así como mejorar la satisfacción general. Está integrado por un equipo multidisciplinar que desarrolla un plan integrado de cuidados en dicha población.

PACE (Programa de cuidados globales en la ancianidad a nivel ambulatorio): su objetivo es mejorar la funcionalidad, modificar el entorno y evitar la institucionalización. Los cuidados primarios se dirigen a ancianos de la comunidad a través de un equipo multidisciplinar en régimen de hospital de día.⁹⁵ Estos cuidados engloban entre otros: atención por parte de enfermería a domiciliario, terapia física y ocupacional, transporte, servicio auxiliar y hogar de día. Los pacientes incluidos en dicho programa se benefician del mismo hasta el final de sus días, inclusive si necesitan atención domiciliaria para tareas básicas o si son institucionalizados. Dicho programa se ha mostrado beneficioso para preservar la funcionalidad, la vida en el ámbito de la comunidad, así como por disminuir los costes, si se compara con los cuidados habituales.⁹⁶

Cuidado hospitalario y ACE (Cuidados Agudos para ancianos): El ámbito hospitalario se ha mostrado como hostil para dicha población, aumentando de forma significativa el riesgo de morbilidad, la pérdida de capacidad funcional⁹⁷, incrementando el riesgo de institucionalización y disminuyendo la calidad de vida de dicha población. Esta pérdida de funcionalidad se mantiene incluso después del alta.⁹⁸ El modelo ACE (Cuidados Agudos para ancianos) trata de evitar dichas complicaciones a través de un plan consistente en modificaciones del entorno, favoreciendo un plan juicioso de altas hospitalarias y de manejo. El beneficio de dicho programa desde el punto de vista de prevención de pérdida de funcionalidad e institucionalización ha quedado demostrado objetivamente en algún estudio.⁹⁹

1.3.5. INCAPACIDAD PARA DESARROLLARSE “FALIURE TO THRIVE”.

1.3.5.1. CONCEPTO E IMPLICACIONES DEL TÉRMINO “FALIURE TO THRIVE”.

El termino “failure to thrive” proviene de un término utilizado en pediatría y que se traduciría como “incapacidad para desarrollarse”.¹⁰⁰ El Instituto Nacional Americano del Envejecimiento lo define como un síndrome caracterizado por pérdida de peso, disminución del apetito, desnutrición e inactividad acompañado ocasionalmente por deshidratación, síntomas depresivos, alteración de la función inmune y bajos niveles de colesterol, lo que representaría un síndrome de deterioro global asociado al envejecimiento, consecuencia de la progresión de la fragilidad física y asociado habitualmente a discapacidad y deterioro cognitivo. Un último paso en el continuo proceso de envejecimiento y que antecedente a la muerte.¹⁰¹

El objetivo en la valoración y el manejo de estos enfermos radica en valorar factores contributivos que pudieran ser modificados o revertidos, como por ejemplo mejorar el nivel nutricional a través de soporte o el tratamiento de procesos infecciosos intercurrentes que podrían causar el fallecimiento del enfermo, manteniendo la perspectiva de la situación del paciente con respeto a las decisiones propias y de familia en relación a los deseos y el nivel de cuidados. Existe cierta controversia en si la definición de dichos enfermos puede asociarse per se, a una disminución de cuidados derivado de las perspectivas de futuro.¹⁰²

1.3.5.2. EPIDEMIOLOGÍA DE LOS ENFERMOS CON FENOTIPOS “FAILURE TO THRIVE”.

Dada la dificultad en una definición precisa de dicha entidad, no se conoce a ciencia cierta la incidencia, epidemiología ni la evolución, aunque los componentes individuales que definen la entidad se asocian claramente con incremento de la mortalidad. Estos enfermos resultan por lo tanto de la interacción de 3 componentes principales; fragilidad física, discapacidad y deterioro cognitivo.

1.3.5.3. FACTORES CAUSALES RELACIONADOS: PÉRDIDA DE PESO, DISCAPACIDAD Y DETERIORO COGNITIVO.

Los principales factores asociados a descompensación son los efectos secundarios de la medicación, las comorbilidades médicas y los factores psicosociales. El dato clave presente en estos enfermos es la fragilidad asociada a pérdida de peso, malnutrición e inactividad física.

Se asume como *pérdida de peso* relevante aquella que condiciona una pérdida superior al 5% del peso corporal en los últimos 6-12 meses. El IMC óptimo en la población anciana oscila entre 24-29 Kg/m², lo que es generalmente superior al recomendado en la población joven. La pérdida ponderal ha sido bien estudiada en la población anciana y se ha relacionado claramente con incremento de la morbimortalidad. Un estudio realizado en población del ámbito comunitario, demostró que aquellos con un IMC normal (25-29 kg/m²) presentaban menor pérdida de funcionalidad que aquellos con bajo peso-IMC;¹⁰³ otro estudio afianzó dicha hipótesis demostrando que los individuos con IMC < 22 Kg/m² presentaban mayor mortalidad y peor estado funcional; finalmente, otro trabajo verificó los datos previos observándose un incremento

de la mortalidad del 20% en la población con IMC < 20.5 Kg/m²,¹⁰⁴ llegando a valores del 40% de incremento en aquellos cuyo IMC era menor del 18.5 Kg/m².¹⁰⁵

La pérdida de peso injustificada, así mismo, incrementa el riesgo de muerte en población institucionalizada,¹⁰⁶ asociándose con pérdida de funcionalidad en actividades de la vida diaria, incremento de la hospitalización, de institucionalización en residencia y deterioro de la calidad de vida.^{106,107} Esto, a su vez, relacionado con la pérdida de peso y no solo de los valores de IMC.¹⁰⁸ El envejecimiento por sí mismo se asocia a un pequeño decremento del peso corporal estimado en 100-200 gramos/año partir de los 70 años de edad.¹⁰⁹ Esta pérdida de peso se asocia, a su vez, a un incremento del tejido adiposo y una pérdida de masa muscular. Ciertos cambios degenerativos asociados a la edad como la pérdida de capacidad olfatoria se podrían relacionar con un decremento del apetito y este por su parte con dicha pérdida de peso.

El diagnóstico diferencial de las causas que provocan adelgazamiento en los ancianos es extenso e incluye problemas médicos, medicación y factores socioeconómicos.¹¹⁰ Factores simples como una mala dentición, pobre higiene dental o xerostomía son factores que favorecen la hiporexia, la dificultad masticatoria y deglutoria.

La *discapacidad* se define como la dificultad o dependencia en la realización de tareas básicas de la vida diaria (necesarias para el autocuidado personal) y en las actividades instrumentales (necesarias para la independencia). La escala de Katz engloba la valoración de 6 actividades básicas; baño, vestido, uso de WC, movilidad, continencia y alimentación (Figura 10).¹¹¹

Índice de Katz (actividades básicas de la vida diaria)

1. Baño	
Independiente:	Se baña enteramente solo, o bien requiere ayuda únicamente en alguna zona concreta (p. ej., espalda).
Dependiente:	Necesita ayuda para lavarse en más de una zona del cuerpo, o bien para entrar o salir de la bañera o ducha.
2. Vestido	
Independiente:	Coge la ropa y se la pone él solo, puede abrocharse (se excluye atarse los zapatos o ponerse las medias).
Dependiente:	No se viste por sí mismo, o permanece parcialmente vestido.
3. Uso del WC	
Independiente:	Va al WC solo, se arregla la ropa, se limpia él solo.
Dependiente:	Precisa ayuda para ir al WC y/o para limpiarse.
4. Movilidad	
Independiente:	Se levanta y se acuesta de la cama él solo, se levanta y se sienta de una silla él solo, se desplaza solo.
Dependiente:	Necesita ayuda para levantarse y/o acostarse, de la cama y/o de la silla. Necesita ayuda para desplazarse o no se desplaza.
5. Continencia	
Independiente:	Control completo de la micción y defecación.
Dependiente:	Incontinencia parcial o total de la micción o defecación.
6. Alimentación	
Independiente:	Come solo, lleva alimento solo desde el plato a la boca (se excluye cortar los alimentos).
Dependiente:	Necesita ayuda para comer, no come solo o requiere alimentación enteral.
A: Independiente para todas las funciones.	
B: Independiente para todas menos una cualquiera.	
C: Independiente para todas menos baño y otra cualquiera.	
D: Independiente para todas menos baño, vestido y otra cualquiera.	
E: Independiente para todas menos baño, vestido, uso WC y otra cualquiera.	
F: Independiente para todas menos baño, vestido, uso WC, movilidad y otra cualquiera.	
G: Dependiente en todas las funciones.	

Figura 10: Índice de Katz.¹¹¹

La escala de Lawton, esta ideada para valorar el nivel de independencia de ancianos del ámbito comunitario, a través de actividades cotidianas que requieren mayor elaboración; cuidado de la

casa, lavado de ropa, elaboración de la comida (estas restringidas a la población femenina), realización de compras, uso de teléfono, gestión de la medicación, utilización de dinero y de transporte (Figura 11).

Índice de Lawton y Brody			
Cuidar la casa		Uso del teléfono	
Cuida la casa sin ayuda	1	Capaz de utilizarlo sin problemas	1
Hace todo, menos el trabajo pesado	2	Sólo para lugares muy familiares	2
Tareas ligeras únicamente	3	Puede contestar pero no llamar	3
Necesita ayuda para todas las tareas	4	Incapaz de utilizarlo	4
Incapaz de hacer nada	5		
Lavado de ropa		Uso del transporte	
La realiza personalmente	1	Viaja en transporte público o conduce	1
Sólo lava pequeñas prendas	2	Sólo en taxi, no en autobús	2
Es incapaz de lavar	3	Necesita acompañamiento	3
		Incapaz de usarlo	4
Preparación de la comida		Manejo del dinero	
Planea, prepara y sirve sin ayuda	1	Lleva cuentas, va a bancos, etc.	1
Prepara si le dan los ingredientes	2	Sólo maneja cuentas sencillas	2
Prepara platos precocinados	3	Incapaz de utilizar dinero	3
Tienen que darle la comida hecha	4		
Ir de compras		Responsable medicamentos	
Lo hace sin ninguna ayuda	1	Responsable de su medicación	1
Sólo hace pequeñas compras	2	Hay que preparárselos	2
Tienen que acompañarle	3	Incapaz de hacerlo por sí solo	3
Es incapaz de ir de compras	4		

Grado de dependencia: Hasta 8 puntos: independientes; 8-20 puntos: necesita cierta ayuda; más de 20 puntos: necesita mucha ayuda

Figura 11: Índice de Lawton-Brody.¹¹²

La discapacidad física es frecuente en la población anciana, en el estudio NHIS (National Health Interview Survey) del año 95 se estimó que del 20-30% de los ancianos de la comunidad presentaban discapacidad en la movilidad, actividades básicas o intermediarias de la vida diaria.¹¹³ Sin embargo, muchos ancianos pueden compensar algún tipo de discapacidad y “progresar”, además la discapacidad en ocasiones es reversible o recurrente,¹¹⁴ no siendo sinónimo de fragilidad ni de “failure to thrive”. Esta a su vez se puede establecerse lentamente como consecuencia de la progresión de múltiples comorbilidades o bien desencadenarse bruscamente después de una circunstancia catastrófica como un ictus. Por si misma la discapacidad se comporta como un factor independiente de riesgo de mortalidad, hospitalización y de necesidad de cuidados crónicos.¹¹³

Deterioro neuropsiquiátrico: El delirio, la depresión y la demencia constituyen las principales entidades relacionadas con el deterioro cognitivo en la población adulta. La valoración del estado cognitivo es esencial en los enfermos con criterios de “failure to thrive”. Las comorbilidades y los efectos secundarios de los medicamentos pueden favorecer la aparición de dichas alteraciones, favoreciendo estas a su vez el desarrollo de discapacidad, malnutrición y fragilidad. La demencia y la depresión forman parte de la definición del fenotipo,¹¹⁵ como se ha demostrado en algunos estudios, en los que se describen hasta un 13% de población con dicho diagnóstico al alta y hasta un 54% de población con deterioro cognitivo.¹¹⁶

El delirio se define como una alteración aguda de la atención y de la función cognitiva global muy frecuentemente asociada a esta población en circunstancias de hospitalización. La demencia, las limitaciones sensoriales, la deshidratación y las comorbilidades médicas incrementan el riesgo de delirio. Este a su vez incrementa la morbimortalidad en la población hospitalaria y a su vez complica la evolución posterior de los ancianos con criterios de “failure to thrive”.

La incidencia de demencia aumenta de forma exponencial al envejecimiento, duplicándose cada década a partir de los 70 años, algunos estudios han estimado una prevalencia de hasta el 42%

en ancianos mayores de 85 años.¹¹⁷ Las limitaciones de la historia clínica en el contexto de demencia y fenotipo "failure to thrive" desafían la capacidad diagnóstica de entidades patológicas en esta población.

La depresión puede ser la única causa o una de ellas que condiciona la "incapacidad para el desarrollo", por si misma puede favorecer la discapacidad, la malnutrición y el adelgazamiento, aumentando la mortalidad en la población anciana independientemente de otros factores. Su prevalencia en la población geriátrica es elevada, estimándose que afecta al 5% de la población comunitaria, llegando a niveles del 25% en aquellos que viven en instituciones residenciales.¹¹⁸

1.3.5.4. VALORACIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LOS ENFERMOS.

En cuanto a la valoración de los enfermos con "incapacidad para desarrollarse" es fundamental realizar una historia clínica completa, valoración física y realización de estudios complementarios.

En relación a la historia clínica; se debe realizar al propio enfermo y a sus cuidadoras, haciendo especial hincapié en los síntomas de fragilidad, discapacidad y las limitaciones neuropsiquiátricas así como en el tiempo de diagnóstico y evolución. Identificando comorbilidades, registrando medicación crónica incluyendo la "no prescrita", suplementos vitamínicos y plantas de herbolario, hábitos tóxicos, desarrollo de nuevos síntomas o signos, constatando limitaciones sensoriales, factores limitantes para la movilidad como alteraciones articulares o para la alimentación, temblor, problemas de dentición, xerostomía, disfagia..., reconociendo signos y síntomas relacionados con procesos infecciosos o inflamatorios crónicos frecuentes en dicha población, factores favorecedores de la pérdida de peso, y síntomas de dolor musculoesquelético crónico.

Es esencial conocer el desempeño en actividades básicas o instrumentales de la vida diaria. Desarrollar una historia dietética que incluya el acceso a la comida, número de comidas al día, cantidad calórica ingerida, necesidad de ayuda para comer, problemas masticatorios, deglutorios y síntomas de hiporexia, saciedad precoz o disfagia. El "Mini-Nutritional Assessment (MNA)" ha sido validado como índice diagnóstico para calibrar la presencia de malnutrición o riesgo de desarrollarla.¹¹⁹ Para una valoración correcta, puede ser recomendable ver al enfermo comer.

Tanto el paciente como los familiares deben ser preguntados por síntomas de depresión y deterioro cognitivo. La puntuación en la Escala Geriátrica de depresión (GDS en sus siglas en inglés) correlaciona los síntomas depresivos con la evolución de la enfermedad entre los que se encuentran la tolerancia al dolor, discapacidad y mortalidad.¹²⁰ Se debe preguntar sobre quejas somáticas asociadas; hiporexia, insomnio, fatiga, dificultad para la concentración, si bien dicha sintomatología es difícilmente discriminable de las quejas asumibles a patología médica.¹²⁰

Debemos, así mismo, preguntar a los familiares por problemas relacionados con la memoria; déficit de memoria reciente, pérdida de capacidad para realizar tareas intermediarias, realización de actividades lúdicas...

Conocer la historia social que incluye el lugar de residencia, soporte económico, nivel educacional, posibilidad de aislamiento y pérdidas/fallecimientos recientes en su entorno. A este respecto el aislamiento social se ha relacionado con el riesgo de institucionalización y de fallecimiento,¹⁰² así como con el desarrollo de fragilidad.¹²¹ El infratratamiento y el riesgo de mal

trato son comunes en dicha población. Un estudio realizado en Boston estimó un 3.2% de víctimas de malos tratos en población anciana.¹²² Elementos claves de sospecha sobre maltrato incluyen; el abuso de drogas por parte de los cuidadores, un soporte social limitado, cambios de actitud con la presencia del cuidador, lesiones inexplicables, errores de prescripción/cumplimiento medicamentoso.

En la valoración física debemos prestar atención a los signos vitales, incluyendo peso, altura, IMC y presencia de ortostatismo, valorar cavidad oral, piezas dentarias, masticación, examen óptico, palpación de senos y de arterias temporales, búsqueda de adenopatías y de nódulos tiroideos, exploración mamaria, rectal, así como realizar un estudio neurológico y sensorial detallado junto con una valoración funcional del enfermo.

El test levantarse y caminar ("Get up and go test") proporciona información valiosa en cuanto varios componente neurológicos. Consiste en levantare de la silla a poder ser sin apoyo de los brazos, caminar durante 3 metros y volver a sentarse; existe un tiempo previsto de realización que varía según la edad, habiéndose evidenciado un incremento del riesgo de caídas en aquellos que tardan más tiempo en realizarlo,¹²³ observándose una buena capacidad de movilidad básica aquellos que son capaces de realizarlo en menos de 20 segundos.¹²⁴ Esta prueba se asemeja a la recogida en nuestro estudio como una de las variables que componente el fenotipo de enfermos frágiles (lenta velocidad de la marcha).

En la valoración mental debemos, de inicio, calibrar el nivel de atención, indagando si este se encuentra alterado por factores desencadenantes asociados, para posteriormente valorar el nivel cognitivo con test validados como el MMSE ("Mini Mental State Examination") o el test Pfeiffer SPMSQ ("Short Portable Mental State Questionnaire").

En relación con los estudios complementarios, como en todos los ámbitos de la medicina, éstos se deben guiar por los datos clínicos. El estudio de laboratorio básico incluye; hemograma, bioquímica básica, función hepática, sedimento de orina, niveles de Ca/P, TSH, vitamina B12 y ácido fólico, albúmina y colesterol (como marcadores de malnutrición), determinación de Vitamina D en aquellos con antecedentes de caídas, radiografía simple de tórax y ECG. Se puede considerar solicitar VSG y PCR si sospecha de proceso infeccioso, inflamatorio o tumoral, así como serologías de sífilis y VIH en enfermos de riesgo.

1.3.5.5. INTERVENCIÓN Y CUIDADOS.

En el caso de malnutrición y pérdida de peso injustificada se podrá considerar la valoración por parte de terapeuta del lenguaje y nutricionista. Estos especialistas podrán distinguir entre un problema deglutorio funcional, dificultar masticatoria y calibrar el riesgo de aspiración, favoreciendo las intervenciones dirigidas para solventar el problema a través de modificaciones de texturas alimenticias, medidas posturales y técnicas deglutorias así como realizar consejos nutricionales (necesidades calóricas, consejos dietéticos).

En todos los casos deben ser valorados por parte de fisioterapia para plantear un programa rehabilitador/fisiátrico ajustado, junto con modificaciones del entorno para evitar lesiones y favorecer independencia, así como valoración por parte de un terapeuta ocupacional con el fin de valorar la capacidad de realización de tareas de la vida diaria y evitar la progresión del deterioro cognitivo.

Finalmente la labor del asistente social puede ser fundamental para evitar el aislamiento, instruir al enfermo y los familiares sobre recursos sociales, comentarios y deseos al final de la vida. Resulta de suma importancia no perder la perspectiva con estos enfermos, limitando en ocasiones los cuidados médicos en esta población vulnerable, preservando los valores individuales así como planteando unos objetivos realizables. En esta población con fragilidad extrema en ocasiones "menos es más", las pruebas de cribado o intervenciones agresivas en ciertas ocasiones pueden acarrear un incremento de las complicaciones asociándose a disminución de la calidad de vida en un paciente ya de por sí con alta morbimortalidad.¹²⁵

1.4. GENÉTICA Y ENVEJECIMIENTO.

1.4.1. EL PESO DE LA GENÉTICA, INFLUENCIA DEL ESTILO DE VIDA/EPIGENÉTICA, EL ENVEJECIMIENTO COMO RASGO POLIGÉNICO.

El peso de la genética en la longevidad se ha estimado en torno al 25%.¹²⁶ Un estudio danés de gemelos nacidos entre 1870 y 1900 encontró que el peso de la genética sobre la esperanza de vida era de 0,26 en el varón y de 0,23 en la mujer.¹²⁷ Dicho peso se incrementa en edades extremas, habiéndose observado que en población centenaria aumenta hasta 0,33 en las mujeres y hasta 0,48 en los varones.¹²⁸ Otros estudios de hermanos con agrupación longeva han refrendado dichos datos.¹²⁹ El tipo de estudio influye en la cuantificación de dicha carga, por ejemplo en el estudio de Framingham, el peso de la genética sobre la longevidad fue del 36% para mayores de 65 años, y del 40% para los mayores de 85 años cuando se estudió como variable dicotómica, descendiendo al 16% cuando se estudió como variable continua¹²⁶.

Así mismo, en estos estudio genéticos de longevidad se ha observado la presencia de agregaciones familiares de longevidad y envejecimiento saludable.^{130,131} En uno de ellos se observó que los padres de los centenarios nacidos en 1870 tenían 7 veces más posibilidades de vivir por encima de los 90 años, y que los descendientes tenían menor frecuencia de enfermedades relacionadas con la edad en comparación con sus esposas, en principio sometidos ambos a la misma "presión ambiental".¹³²

El ambiente y el estilo de vida influyen por otra parte de manera relevante en la longevidad y en los fenotipos de envejecimiento, dichos factores se van modificando a lo largo de los años de manera sustancial, no siendo actualmente los mismos que al nacimiento de la población anciana actual, lo que puede influir de manera notoria en los estudios de envejecimiento.

Una vez que el estilo de vida posee un mayor impacto que los factores genéticos sobre el envejecimiento saludable, parece poco probable que diferencias en el estilo de vida no actúen como mecanismos de confusión en los estudios de longevidad que pretenden valorar la influencia genética¹³³. Resulta desafiante cuantificar el peso del estilo de vida en un grupo concreto de estudios como en el caso de los centenarios.

El grupo control formado por población joven posee inevitablemente un estilo de vida diferente. Por ejemplo el estudio CHARGE consorcio, comparó población nonagenaria con otra que había fallecido a edades comprendidas entre 55 y 80 años,¹³⁴ el número de fumadores era muy superior en el grupo control. El estudio Longevity Gene Study intentó resolver las limitaciones relacionadas con la edad de nacimiento usando datos del estilo de vida preexistentes, para ello utilizó como grupo control población del estudio NHANES (compuesto por una cohorte de 3164 individuos con similares fechas de nacimiento al grupo de casos, compuesto por 477 individuos

Judios Ashkezani de edades entre 96-109 años).¹⁶ A pesar de que no existían diferencias significativas en cuanto al estilo de vida de ambos grupos, se encontraron diferencias sutiles: menor tasa de obesos varones, más sobrepeso femenino..., esas diferencias combinadas con ciertas limitaciones de memoria del grupo longevo, implica que se podrían haber perdidos pequeñas diferencias del estilo de vida que podría sin embargo justificar sustanciales diferencias de salud a largo plazo. Además los biomarcadores de exposición pueden variar no solo con la propia exposición, sino a lo largo del tiempo, complicando el uso de estos métodos para la valoración de los diferentes fenotipos.

La *epigenética* que se define como la interacción entre el genoma y el ambiente, está emergiendo como un factor relevante en la longevidad. Con la edad se incrementan los cambios en los patrones de metilación, así como las discordancias en la metilación entre gemelos monocigóticos,¹³⁵ un hecho que parece relacionado con los efectos ambientales y del estilo de vida en el epigenoma. Estudios de metilación del DNA avalan la idea de que con el envejecimiento se produce una relajación del control epigenético y que este cambio epigenético se asocia a diferentes formas de envejecimiento.¹³⁶

Un estudio EWAS (Epigenomewide Association Scan), identificó regiones metiladas diferenciadas según la edad o el fenotipo de envejecimiento.¹³⁷ La secuenciación genómica completa bisulfito del DNA de los linfocitos T CD4 de un centenario y de un recién nacido identificó regiones metiladas diferenciadas, que normalmente fueron identificadas como hipometiladas y menos relacionadas con la metilación adyacente de dinucleótidos CpGf (Cytosine guanine nucleotide) en el centenario.¹³⁸ Estos datos favorecen la idea de la aparición de cambios en la metilación del DNA acumulativos con el tiempo.

Los cambios temporales en la metilación del DNAmuestran así mismo una marcada agregación familiar.¹³⁹ Un estudio sobre la metilación del DNA que comparó 3 grupos: el primero formado por centenarios y sus descendientes en relación con otros descendientes sin historia de longevidad familiar y otro grupo joven, demostró que los descendientes de los centenarios retrasaban los cambios en la metilación del DNA relacionados con la edad.¹⁴⁰

En otras especies, en concreto en *C.elegans*, se ha demostrado que existe heredabilidad epigenética transgeneracional en poblaciones longevas.¹⁴¹ Pudiera ser que los cambios epigenéticos tuvieran influencia en la expresión genómica, así se ha demostrado en estudio con moscas de *Drosophila* en las que las más longevas presentaban un perfil genómico similar a las más jóvenes.¹⁴² Estos estudios son más difíciles de realizar en humanos. Un estudio con miRNA que comparó la expresión genómica entre una población de ancianos saludables en relación a otra joven, identificó genes diferentemente expresados en enfermedades asociadas a la edad.¹⁴³ Otro trabajo similar encontró una disminución de la expresión genómica asociada al envejecimiento con mantenimiento de la misma en la población joven y en los centenarios¹⁴⁴. Este tipo de estudios no permite diferenciar si el motivo de la diferente expresión genómica depende de la longevidad, la edad cronológica o el ambiente.

La longevidad puede representar un complejo *rasgo poligénico* en el que influyen múltiples variaciones genética. Esta hipótesis se intentó contrastar recientemente a través de un estudio longitudinal realizado en Suecia y Holanda, en el que se trató de relacionar un cómputo de riesgo genético compuesto por más de 700 polimorfismos relacionados con rasgos y patologías comunes (presión arterial, diabetes..), con la longevidad y el desarrollo de ciertas patologías comunes (enfermedad coronaria, ictus, insuficiencia cardiaca, diabetes, demencia, cáncer de pulmón y colon...).¹⁴⁵ Dicho cómputo ("score") se asoció de forma significativa con la esperanza

de vida, encontrándose una mayor asociación con la posibilidad de sobrevivir hasta los 80-90 años, pero no con edades más extremas. Estos datos contrastan con un estudio previo en el que se determinó que un modelo genético concreto, que constaba de 281 polimorfismos, aumentaba la sensibilidad para distinguir capacidad de supervivencia hasta edades avanzadas (85% de sensibilidad para edades > 105 años), lo que corrobora la hipótesis de que la contribución de la genética sobre la longevidad es más relevante en edades extremas.¹⁴⁶

Un reciente metaanálisis de 5 estudios de casos y controles, demostró que 128 de estos 281 SNPs se asociaban significativamente con la longevidad excepcional, entre los polimorfismos asociados a este hecho se encontraban algunos relacionados con la enfermedad de Alzheimer y con la enfermedad coronaria.¹⁴⁷

1.4.2. VÍAS METABÓLICAS RELACIONADAS CON EL ENVEJECIMIENTO Y LA LONGEVIDAD: DNA MITOCONDRIAL, ESTRÉS OXIDATIVO Y TELOMEROS.

Una revisión reciente realizada por Sevini plantea el papel del *DNA mitocondrial* sobre la longevidad.¹⁴⁸ La mitocondria es un órgano central en la producción de energía a través de la fosforilación oxidativa, que resulta esencial en la regulación del metabolismo celular y en la apoptosis. Además produce y regula material REDOX (Reacciones de reducción-oxidación), que a su vez se han identificado como causa de senectud a través del daño del DNA.^{148,149} Un estudio reciente demostró que mutaciones no sinónimas del DNA mitocondrial a nivel de los complejos I, III y V de la vía fosforilativa se asociaban a la longevidad y a ciertos fenotipos de envejecimiento saludable.¹⁵⁰ Los resultados fueron un tanto contradictorios: por ejemplo mutaciones en el complejo I fueron más frecuentes en el grupo nonagenario finlandés que en el grupo control, al contrario de lo que se observó en la población danesa y del sur de Europa. De forma global la presencia de mutaciones en ambos complejos, I y III o I y V, fueron más frecuente en el grupo control que en la población longeva. Así mismo la frecuencia de mutaciones del DNA mitocondrial asociada a enfermedades degenerativas fue más común en el grupo nonagenario, incluyendo la mutación del gen del RNA mitocondrial que previamente se había relacionado con enfermedad de Alzheimer. Cómo la interacción del DNA mitocondrial con el genoma nuclear podría explicar esta aparente paradoja, es un tema aún por resolver en futuras investigaciones.^{151,152}

El estrés oxidativo podría jugar un importante papel en el envejecimiento¹⁵³. El estrés oxidativo resulta de una desregulación entre la generación de moléculas oxidativas y la respuesta antioxidante endógena. Con el envejecimiento, la formación de ROS (Reactive oxygen species) sobrepasa la capacidad antioxidante endógena y favorece un estado de fragilidad en el individuo anciano que a su vez incrementa el riesgo de infecciones, enfermedades relacionadas con vejez, discapacidad y muerte.^{149,153} Sin embargo el mantenimiento de niveles moderados de estrés oxidativo a través de mecanismos relacionados con un infraregulación de la señalización ROS, podría mejorar la respuesta antioxidante y promover la longevidad, en un concepto que se ha denominado mito-hormesis.¹⁵⁴

Ciertos factores genéticos podría estar involucrados en la respuesta del estrés oxidativo en lo que se considera un beneficio evolutivo. Las superoxidodismutasa (SODs) representan una clase de moléculas antioxidantes que protegen a las células de los radicales libres. Estudios previos han intentado dilucidar su implicación en la longevidad y en los fenotipos de envejecimiento. Un estudio longitudinal realizado sobre una cohorte danesa de 1650 participantes ancianos (edades comprendidas entre 92-93 años), identificó un polimorfismo situado en SOD2 rs4880 con ciertos fenotipos de envejecimiento saludable (mejoría en los niveles de calidad de vida, en el grado de

discapacidad y en la capacidad cognitiva) y con la longevidad, aquellos individuos portadores del alelo C mostraban más longevidad en relación a los que no.¹⁵⁵ Sin embargo otro estudio realizado en población alemana extraordinariamente longeva (En total 1612 nonagenarios y centenarios) y que estudio la relación de varios polimorfismos (en total 19 SNPs, incluido rs4880) relacionados con 3 genes de superoxidodismutasa (SOD1, SOD2 y SOD3), no encontró una asociación con la longevidad ni con fenotipos de envejecimiento saludable.¹⁵⁶ Dicha inconsistencia de resultados podría estar justificada por la diferencia del diseño de los estudios (retrospectivo frente prospectivo), los rangos etarios de las poblaciones estudiadas y las especificidades poblacionales.

Los telómeros resultan esenciales en el proceso de envejecimiento. Dichas estructuras se acortan con la edad y son considerados un biomarcador de envejecimiento. El papel biológico de los telómeros en el envejecimiento saludable y patológico se ha descrito recientemente en un estudio realizado por Zhu y col.¹⁵⁷ La longitud de los telómeros leucocitarios se ha relacionado con parámetros de salud y desarrollo físico en los ancianos. Así lo demostró un estudio que engloba a un grupo de ancianos residentes en la comunidad de entre 70 y 79 años, asociándose una mayor longitud telomérica con el envejecimiento saludable.¹⁵⁸

Un estudio posterior (Louisiana Healthy Aging Study) reafirmó dicho concepto.¹⁵⁹ Así mismo, se ha relacionado la longitud de los telómeros leucocitarios con una buena capacidad física en la ancianidad en una población de gemelos daneses mayores de 77 años,¹⁶⁰ e inversamente, el acortamiento telomérico con la discapacidad en un grupo de ancianos americanos.¹⁶¹

Una investigación con centenarios Ashkenazis y sus descendientes demostró igualmente una mayor longitud de los telómeros en dicha población en relación al grupo control, lo que se relacionaba a su vez con menor carga de enfermedad. Por el contrario un estudio con población canadiense con envejecimiento saludable (exentos de cáncer, enfermedad cardiovascular, Alzheimer, enfermedad pulmonar crónica ni diabetes) no encontró una mayor longitud de los telómeros en dicha población, observando sin embargo una menor variabilidad de la longitud telomérica en relación con la población control, conformada por individuos de mediana edad, lo que podría implicar que lo esencial sería la óptima longitud de los telómeros más que la longitud en sí.¹⁶²

Las variaciones en los genes relacionados con el mantenimiento de los telómeros se han relacionado igualmente con la longevidad. Un polimorfismo de SIRT1 (Sirtuin- silent mating type information regulation 2 homolog 1)¹⁵⁹ y otro a nivel de TERC (Telomerase RNA component)¹⁶³ se asocian a su vez con la longitud de los telómeros leucocitarios y con la longevidad. Un análisis detallado de TERT (Telomerase reverse transcriptase) y TERC en centenarios Ashkenazis, mostró un exceso de variación genética en ambos genes e identificó un haplotipo a nivel de TERT relacionado con la longevidad extrema.¹⁶⁴ Análisis de estudios GWAS han confirmado la importancia del mantenimiento de los telómeros en la longevidad.¹⁶⁵

En resumen: El mantenimiento de los telómeros es un proceso importante en el envejecimiento y también un biomarcador del mismo. La longitud de los telómeros leucocitarios es un biomarcador de envejecimiento y de envejecimiento saludable. Las variaciones de los genes relacionados con el mantenimiento de los telómeros se relacionan con la longitud de los mismos, la calidad de vida y la longevidad.

1.4.3. ESTUDIOS QUE RELACIONAN LA GENÉTICA, EL ENVEJECIMIENTO Y LA LONGEVIDAD.

La mayor parte de los estudios realizados en la materia hasta la fecha, son estudios de genes candidatos asociativos. Una de las limitaciones de dichos estudios, se encuentra en la selección del grupo control, que hasta la fecha ha estado principalmente formado por población joven. Un grupo control seleccionado por edades de nacimiento similares a las del grupo casos, podría mejorar la potencia del estudio, ya que de alguna manera evitaría ciertos sesgos relacionados con factores ambientales y experiencias vitales.¹⁶⁶ Igualmente un diseño prospectivo del estudio, con datos genéticos obtenidos a edades intermedias de la vida y seguimiento hasta edades longevas, podría reducir las limitaciones inherentes a un diseño de casos y controles, así como conocer la contribución genética asociada a los diversos fenotipos de envejecimiento. La mayor parte de los estudios sobre envejecimiento realizados hasta la fecha, han estudiado la esperanza de vida más que el tipo de envejecimiento. Aunque lo primero es importante, el alcanzar edades avanzadas con plena capacidad física, cognitiva y libre de enfermedades crónicas, es aún más importante desde el punto de vista de la salud pública.

Dentro de los estudios genéticos relacionados con el envejecimiento, encontramos limitaciones de diferente tipo: el efecto individual de una variable puede ser pequeño¹⁶⁷ y por lo tanto no fácilmente identificado en un análisis univariante, para evitar los falsos positivos, se hace necesario corregir por múltiples test ya que muchas veces se estudian múltiples variables al mismo tiempo, esto requiere una *p* muy baja para obtener significación. La investigación de los efectos genéticos combinados de varias variables de una misma vía, es una nueva estrategia desarrollada al objeto de disminuir las limitaciones de estos estudios, y así favorecer que determinados genes alcancen significación estadística en los estudios de asociación.¹⁶⁵ Desde el punto de vista biológico, el fundamento de estas nuevas investigaciones se basa en el hecho de que diferentes genes pueden desarrollar un efecto colectivo/sumatorio en una determinada vía. Desde el punto de vista estadístico, el análisis de grupos de polimorfismos y genes tiene igualmente ventajas, ya que reduce la carga de múltiples test y aumenta el poder de significación.^{168,169}

De todos los estudios realizados sobre longevidad en el ámbito de la genética, solo variantes de 2 genes, APOE (Apolipoproteína E) y FOXO3A (Forhead box O3) han demostrado resultados relevantes.^{133,170-172}

APOE es uno de los principales transportadores del colesterol, resultando esencial en el transporte lipídico y en ciertos mecanismos reparativos cerebrales. Consta de 3 principales alelos (2,3 y 4) lo que da lugar a 6 posibles genotipos.¹⁷³ El alelo 4 se asocia a incremento de riesgo de enfermedad de Alzheimer, mientras el alelo 2 es un factor protector para la misma,¹⁷⁴ habiéndose implicado a ambos alelos con el riesgo cardiovascular. La asociación entre enfermedad cardiovascular y enfermedad de Alzheimer podría relacionarse con la implicación de ambas isoformas en la inflamación, la dislipemia y el estrés oxidativo.^{133,173,175}

Aunque no es un hecho consistente, algunos estudios han observado un mayor expresión de APOE2 en población anciana y centenarios, lo que podría relacionarlo claramente con la longevidad,^{171,176} a la inversa la presencia de APOE4 en dicha población es inferior a la esperada, lo que podría relacionarse con mortalidad precoz en la población portadora de dicho genotipo.¹⁷⁰ De hecho se ha identificado un polimorfismo situado cerca de APOE rs2075650, localizado en TOMM40 (Translocase of outer mitochondrial membrane 40), situado en el

cromosoma 19q13.32), que es el único SNP que ha demostrado asociación significativa con la longevidad en los estudios de GWAS.^{146,177,178}

Un trabajo reciente de casos y controles comparado alelos y frecuencias genotípicas en centenarios frente población joven libre de enfermedad desarrollado en España, Italia y Japón, demostró que la presencia del alelo 4 reduce la posibilidad de alcanzar edades longevas un 45-65%.¹⁷⁹ Al contrario de lo que sucedía con APOE2, cuya prevalencia en la población italiana y japonesa se asoció a incremento de la longevidad. La población centenaria reclutada en el subestudio italiano se encontraba libre de enfermedad y cognitiva preservada, lo que favorece la posibilidad de una asociación no solo con la longevidad sino con el envejecimiento saludable.

Un estudio de asociación genómica realizado en una población de europeos nonagenarios con antecedentes longevos, encontró que la región cromosómica situada en 19q13.11–q13.32 era más frecuente entre dicha población,¹⁸⁰ habiéndose observado a través subestudio posterior usando análisis del genoma completo (GWAS) que los alelos APOE4 y APOE2 explican dicha asociación. Otro estudio asociativo que comparó hijos de individuos con antecedentes familiares de longevidad en relación a su pareja, demostró una reducción del 25% en la posibilidad de alcanzar edades avanzadas para los portadores del alelo 4.¹⁸¹ Así mismo metaanálisis de estudios GWAS, han identificado el locus (TOMM40/APOE/APOC1) como significativamente relacionado con individuos mayores de 90 años.¹⁸²

Más allá de la asociación de APOE con la longevidad, que se ha visto refutada claramente por estas investigaciones, un trabajo reciente que comparó fenotipos con envejecimiento saludable en relación con población joven, fracasó en la búsqueda de asociación con APOE.¹⁸³ El pequeño tamaño muestral podría haber influido en la ausencia de resultados positivos. El efecto de estos subtipos de envejecimiento podría ser importante, ya que ciertas variaciones comunes no explican totalmente la heterogeneidad de la longevidad.¹⁸⁴ En este momento por lo tanto, son necesarios más estudios en este campo para dilucidar el papel de APOE en dichos fenotipos.

El gen FOXO3A se ha asociado a longevidad en estudios de asociación genómica realizados en población centenaria alemana, italiana y china.¹⁸⁵⁻¹⁸⁷ Este gen se relaciona con la vía de señalización de insulina/factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-1), que ya con anterioridad se había relacionado con envejecimiento en modelos animales, considerándose un mecanismo de desarrollo evolutivo.^{188,189} Recientemente se ha demostrado que otros genes implicados en esta vía no se relacionan con la longevidad ni con fenotipos de envejecimiento saludable.¹⁹⁰ El mecanismo preciso a través del cual el gen FOXO3A podría influir en la longevidad, estaría relacionado con sus efectos sobre el estrés oxidativo, la sensibilidad a la insulina y la progresión del ciclo celular¹⁶⁶.

Un metaanálisis GWAS, observó solo una pequeña asociación de FOXO3A con la posibilidad de sobrevivir más allá de los 90 años.¹⁸² Más aún, en un estudio de asociación genómica en nonagenarios que intentaba relacionar a FOXO3A y algún otro gen relacionado (FOXO1) con el envejecimiento, no detectó asociación entre ambos.¹⁸⁰ Nuevamente el pequeño tamaño muestral de los estudios, basados en una población escasa por sus peculiaridades, podría justificar la ausencia de asociación, ya que la asociación de FOXO3A con el envejecimiento se ha demostrado más potente en individuos francamente añosos (mayores de 95 años y especialmente en centenarios).^{172,186}

Ciertas variantes en el gen CETP (Cholesteryl ester transfer protein-Proteína transportadora de colesterol), que se relaciona con la regulación de los niveles de lipoproteínas de alta densidad,

plantearían una posibilidad asociativa. A este respecto se han desarrollado estudios positivos en población de judíos ashkenazi y varones niponoamericanos.^{191,192} Sin embargo, otro trabajo reciente realizado en población Han china longeva, no encontró asociación en 4 SNPs estudiados de la región promotora del gen CEPT.¹⁹³ Un metaanálisis realizado sobre 8 estudios similares tampoco demostró asociación.¹⁹⁴

Un trabajo chino llevado a cabo en población nonagenaria y centenaria frente a población joven, identificó de forma significativa una asociación de dicha población con genes GNB3 (Guanine nucleotide binding protein) y NOS, cuyas variantes se han relacionado con la hipertensión y la función vascular, vía generación de óxido nítrico respectivamente.¹⁹⁵

Otra investigación demostró que alteraciones en 2 variantes del gen de la sintasa del óxido nítrico (NOS1 y NOS2), se asociaron a una disminución de la longevidad, sugiriendo que la producción y señalización del óxido nítrico podría estar relacionada con el envejecimiento.¹¹

Otros genes implicados en vías inflamatorias se podría relacionar con la longevidad, como se demostró en un estudio de casos y controles en el que los homocigóticos del gen RAGE (Receptor for advanced glycation endproducts), fueron más prevalente dentro de ancianos varones.¹⁹⁶

Otro trabajo, este realizado en población alemana, mostró que las alteraciones en el gen relacionado con el complemento C4 se relacionaron con la longevidad, lo que sugiere un papel potencial de la inmunidad en el envejecimiento.¹⁹⁷ Un estudio realizado en población danesa, demostró que variaciones genética en 9 subprocesos de la respuesta reparadora del DNA (fueron estudiados en total 77 genes y 592 SNPs),¹⁹⁸ que son de vital importancia en la estabilidad genética, se asociaba significativamente con la longevidad.

Existen genes concretos relacionados con la longevidad, como es el caso de un gen situado en el brazo corto del cromosoma 4 (D4S1564): en un estudio realizado a través de un amplio muestreo genómico en el año 2001, se demostró una relación de dicho gen, con la posibilidad de vivir hasta edades avanzadas, al menos 98 años en un pariente previo (probando), 91 años en el caso de los varones, y 95 en las mujeres que formaron parte del estudio.¹⁹⁹ Posteriormente otro trabajo relacionó dicho gen, con un fenotipo de envejecimiento saludable (definido por la ausencia de enfermedad cerebrovascular y de cáncer de próstata) en una población de gemelos varones.²⁰⁰ Un análisis posterior de haplotipos de dicha porción genómica, que incluye 12 millones de pares de bases y 50 genes principales, implicó a la proteína transportadora microsomal de triglicéridos (MTP-Microsomal trygliceride transfer protein), como principal responsable del envejecimiento beneficioso de dicha población.²⁰¹

En el año 2010, un estudio aún mayor que incluyó la realización de 9751 polimorfismos, encontró nuevamente una asociación entre la longevidad y el brazo corto del cromosoma 4 (4q22-25), así como otras regiones del cromosoma 3 (3p22-24), 9 (9q31-34) y probablemente el 12.²⁰² Otro trabajo de asociación corroboró los hallazgos del cromosoma 3 n(3p22-24), relacionándolo a longevidad individual (definida como aquellos que se encontraban en el cuartil superior para una longevidad excesiva, siendo esta la diferencia entre la longevidad observada y la esperada), y longevidad familiar excesiva, identificando otros posibles "focos" adicionales (18q23-24, 8q23 y 17q21). Esta investigación se realizó a través de 1100 marcadores de microsatélites.²⁰³ Metanálisis posteriores han proporcionado un refuerzo asociativo de genes situados en 8q, 9q y 17p, estos nuevos datos sin embargo no han demostrado la relación previa observada en los cromosomas 4 y 12.

Un estudio realizado en población Amish, diferenciando 2 fenotipos de envejecimiento: envejecimiento saludable (cognitivamente preservados sin evidencia de depresión, con buen nivel funcional y buena calidad de vida autopercibida) en relación al envejecimiento normal, en una población previamente seleccionada según sus antecedentes de pertenencia a dicha etnia religiosa, en el que se estudiaron 630309 polimorfismos puntuales encontró una asociación de ciertos genes situados en el cromosoma 6 (6q25-27) y en el 7 rs205990 con el primero de dicho fenotipos. El lugar relacionado con el cromosoma 6 es diferente del localizado en otros estudios similares realizados con otro tipo de población.^{204,205}

Los rasgos de personalidad se asocian a la longevidad y al envejecimiento saludable.²⁰⁶ Basados en esta evidencia, un estudio GWAS realizado en un total de 4595 individuos de un total de 583 familias, extrapolados en 5 rasgos de personalidad, identificó un lugar asociado con la simpatía y la longevidad, así como 9 polimorfismos que podría relacionar la longevidad con diferentes rasgos de personalidad.²⁰⁷

Sin embargo los estudio GWAS sobre la longevidad y fenotipos de envejecimiento no han demostrado la misma fuerza asociativa, ni han detectado el mismo números de polimorfismos si lo comparamos con aquellos realizados en otras enfermedades complejas (cáncer, diabetes, enfermedad cardiovascular...), lo que podría explicarse por el hecho de que el envejecimiento es un proceso aún más complejo, en parte ya que se necesita un definición concreta de cada uno de los fenotipos y porque los factores ambientales son más difícilmente controlables en parte porque estos se modifican a lo largo del tiempo.¹³³

Existe la sospecha de que ciertos polimorfismos que no alcanzan la significación suficiente en estudios de GWAS, podrían ser biológicamente importantes tanto de forma individual como por sus efectos sumatorios. Varios estudios han usado una variedad de modificaciones técnicas para analizar si dichos polimorfismos son relevantes desde el punto de vista de la longevidad.

Ejemplo de ello es el estudio de Lunetta, realizado sobre población del estudio Framingham, basado en 5 fenotipos de envejecimiento y que observó una asociación de varios polimorfismos situados cerca del gen del síndrome de Werner (WRN y FOXO1), GAPDH (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase), KL (Khotho gene), LEPR (Leptin receptor precursor gene), PON1 (Paraoxonase 1 gene), PSEN1 (Presenilin 1 gene) y SOD2.²⁰⁸ Otra investigación realizada también en población del estudio Framingham, que valoró la asociación con 4 endofenotipos concretos (enfermedad cardiovascular, cáncer, presión sistólica y colesterol total), identificó 63 polimorfismos asociados con un nivel de significación de 10^{-6} , con al menos uno de los fenotipos estudiados. En total 76 genes podrían estar relacionados con procesos involucrados en el envejecimiento.²⁰⁹

Algunos autores han planteado que la esperanza de vida depende del número de alelos dentro del genoma que se relacionan con pequeños efectos sobre la longevidad, pero que de forma conjunta podrían interrelacionarse para producir efectos relevantes.²¹⁰ Este grupo volvió a analizar los resultados del estudio Framingham 550K SNP (participantes del estudio Framingham genotipados con Affymetrix 550K SNPs) e identificó 169 SNPs asociados con un nivel de significación de 10^{-6} . El número de esos polimorfismos expresados individualmente se relaciona con la longevidad y explicaría un 21% de la variabilidad. Al contrario, la expresión puntual de un único polimorfismo no tiene relación con la longevidad.

Un análisis grupal GWAS sobre enfermos del estudio LLS (Leyden Longevity Study) y el estudio de Rotterdam, demostró la relación entre genes involucrados en la señalización del complejo

insulina/IGF-1 y aquellos encargados del mantenimiento del tamaño de los telómeros con la longevidad.¹⁶⁵ Se identificaron 88 SNPs dentro de los genes 68 IIS (Insulin/insulin-like growth factor signaling pathway) y 13 TM (Transmembrane gene) respectivamente.

Sebastiani y col. construyeron un modelo ("Rasgos genéticos de longevidad excepcional"), en el que 281 SNPs mostraron una sensibilidad y una especificidad del 89% para predecir longevidad en su grupo GWAS, dicha especificidad y sensibilidad caía al 58 y 58-85% respectivamente, cuando analizados de forma independiente. Dichas alteraciones podría justificar el 20% de la herencia asociada a la longevidad extrema.¹⁴⁶ Igualmente se encontró asociación con el SNPs TOMM40 cerca de APOE, que por si mismo se asociaba a un pobre valor predictivo: la retirada de dicho polimorfismo del modelo grupal reducía la sensibilidad y la especificidad solo un 1%. Del total de 281 SNPs, 137 se encontraban en 130 genes: incluyendo LMNA (Laminin A gene), WRN, SOD2, CDKN2A (Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A), SORCS1 (Sortilin-related VPS10 domain containing receptor 1), SORCS2 (Sortilin-related VPS10 domain containing receptor 2), y GIP (Gastric inhibitor polypeptide). Dicho grupo de genes se relaciona de forma considerable con la enfermedad de Alzheimer (38 genes), demencia (42 genes), taupatías (38 genes), enfermedad cardiovascular (24 genes) y varias neoplasias.

En muchos casos, esta asociación de genes con intereses biológico esta poco probablemente justificada por el azar, siendo plausible una relación asociativa que, sin embargo, no alcanza la significación requerida por los estudios GWAS, lo que podría entenderse como que los cambios producidos por estos genes serían muy sutiles para detectarse individualmente. A su vez, se encontrarían más influenciados por factores ambientales. Por lo que un mismo grupo de variantes genómicas no tendría la misma relevancia sobre diferentes poblaciones debido a las diferentes influencias ambientales de cada una de ellas.²¹⁰

1.4.4. LAS ESPECIFICIDADES DE LOS CENTENARIOS.

Varios estudios recientes han demostrado que los centenarios carecen de ciertos alelos de riesgo para el desarrollo de enfermedades comunes que afectan a la población general.

Un estudio de casos y controles realizado en un total de 723 hermanos nonagenarios (edad media 94 años) del LLS y 721 controles jóvenes (media de edad 52 años), así como en 979 ancianos (media etaria de 85 años) de un subestudio posterior que contaba con 1167 controles jóvenes del registro holandés de gemelos, en el que se estudiaron 30 SNPs asociados a enfermedad cardiovascular, cáncer y diabetes mellitus tipo 2, observó, que 27 de ellos se expresaban por igual en ambos grupos. Por lo que concluyeron que este estudio GWAS, identifica alelos de riesgo para ciertas enfermedades que no comprometen a la longevidad, y sugieren que la ausencia de factores de riesgo para enfermedades raras, o la presencia de factores protectores, podrían ser hipótesis de trabajo para futuras investigaciones.²¹¹ Sin embargo, es importante recordar que tanto la enfermedad cardiovascular, como el cáncer y la diabetes, se encuentran ampliamente relacionados con factores ambientales, por lo que dichos factores podrían influir de manera relevante en el desarrollo de dichas patologías.

Esta evidencia ha sido corroborada posteriormente en otro trabajo en el que se estudió la distribución de SNPs relacionados con la diabetes mellitus tipo 2. En dicha investigación, se observa que el control metabólico y el perfil glucémico son mejores en el grupo de casos, descendientes de una población longeva previa estudiada en el LLS, en relación a sus esposas y otros controles, sin embargo, no hay diferencias en la distribución en los polimorfismos

estudiados. Por lo que plantea la presencia de factores protectores relacionados con la mejoría del control metabólico y glucémico en la población longeva. Este estudio realizado sobre poblaciones de idénticas edades, parece eliminar el sesgo ambiental, lo que potencia la hipótesis del factor protector.²¹²

Otro estudio GWAS realizado en población centenaria, tampoco ha encontrado una distribución diferente de ciertos polimorfismos relacionados con diferentes enfermedades, en total 1214 SNPs, en relación al grupo control.¹²⁸ Lo mismo se observó en una población aún más longeva denominados supracentenarios.¹⁸⁴

Estos importantes y quizás sorprendentes resultados observados en población extremadamente longeva, que muchas veces asocia un buen estado de salud concomitante, demuestran que no son incompatibles con la presencia de alelos de riesgo para el desarrollo de enfermedades. Lo que plantea la hipótesis, de que no se trata de la presencia de "malos" alelos sino de "buenos" alelos, los que podrían favorecer la longevidad, a través sus efectos protectores sobre factores ambientales.¹³³ Estos factores protectores impedirían de alguna manera la expresión de dichos alelos de riesgo. Más allá de las implicaciones sobre la longevidad, estos datos abren una puerta de estudio para dilucidar el motivo por el que se evitaría el desarrollo de ciertas enfermedades a pesar de la presencia de alelos de riesgo.

Un mecanismo a través del cual se evita el desarrollo de enfermedades relacionado con la presencia un alelo de riesgo, es a través del mecanismo tampón que desarrollarían ciertos alelos protectores. Ejemplos de genotipos tampones son CETP VV, APOC3 CC y una +2019 delección a nivel de ADIPOQ (Adiponectin C1Q).²¹³ Estos alelos tampones muestran una distribución en curva de U, con mayor presencia a edades jóvenes, caída a edades intermedias/longevas precoces y nuevamente incremento de su presencia en edades excepcionalmente longevas. En el estudio previo se demostró el efecto tampón de CEPT VV sobre el gen de LPA.

Otras investigaciones han encontrado datos que orientan hacia el efecto tampón de otros genes: un trabajo del año 98 describió una trayectoria convexa relacionada con la edad, de la expresión del genotipo 3'APOB-VNTR (Apolipoprotein B3' hypervariable regions) que fue inicialmente interpretada como un cambio en las curvas de mortalidad.²¹⁴ Otro estudio posterior en que se estudiaron varios genes relacionados con fenotipos de envejecimiento saludable, encontró que la presencia de un alelo de APOA1 (Apolipoprotein A1), que se correlaciona con altos niveles de LDL-col era paradójicamente más frecuente en la población anciana, lo que se denominó, "otra paradoja genética de los centenarios", sin embargo esta observación podría reflejar la presencia de genes tampones, que permitirían una sobreexpresión ineficaz desde el punto de vista clínico de genes asociados a enfermedad.²¹⁵ El mecanismo buffer podría explicar los datos inconsistente relacionados con el gen MTP.²¹⁶ MTP CC, se trata de un genotipo deletéreo que es tamponado por alguno de otros 3 genes relacionados con la longevidad (CEPT, APOC3 o ADIPOQ), dicho gen muestra una distribución en curva de U con un descenso de la expresión entre los 55 y 85 años de edad y un repunte significativo a partir de los 90 años. El aumento de su expresión en los centenarios solo en la presencia de genes tampones, podría estar en parte explicado por su relación con el cromosoma 4, aunque esta hipótesis no ha sido totalmente dilucidada en todos los estudios realizados.

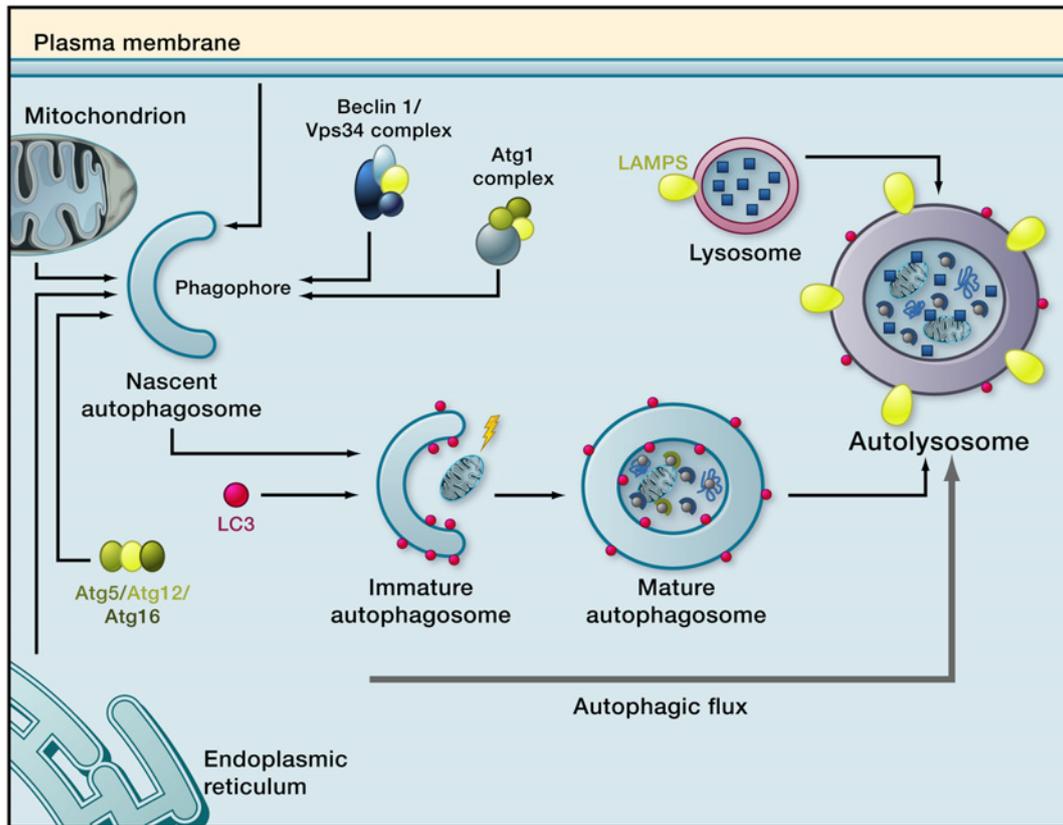
El efecto buffer se ha descrito en modelos de organismos. La proteína del shock térmico--heat shock protein 90 (Hsp90), es un tampón genético para el desarrollo de *Drosophila*, que le permite su crecimiento bajo condiciones neutras.²¹⁷ Dicho gen es un conocido inductor que enmascara la presencia de un variación fenotípica.

1.4.5. AUTOFAGIA.

1.4.5.1. AUTOFAGIA: GENERALIDADES/IMPORTANCIA METABÓLICA.

La autofagia abarca diferentes rutas mediante las cuales las células aportan sustratos citoplasmáticos a los lisosomas para su degradación. En ella se incluyen la macroautofagia, la autofagia mediada por chaperonas y la microautofagia. El proceso de macroautofagia se puede entender como una especie de autocanibalismo, en el que porciones del citoplasma son secuestradas dentro de vesículas con doble o múltiples membranas (autofagosomas), que posteriormente son transportadas hasta los lisosomas para su degradación. La fase inicial consiste en la formación de una fagosfora, también denominada membrana de aislamiento, la deglución de material citoplasmático a través de la fagosfora, la elongación de su membrana y la fusión de sus bordes para cerrar el autofagosoma. La membrana externa del autofagosoma se une al lisosoma para formar el autolisosoma (también conocido como autofagolisosoma), en cuya luz se degrada el material ingerido (Figura 12). Los productos resultantes se liberan a través de permeasas y son reciclados en el citosol.²¹⁸

Se conocen 16 genes ATG relacionados con autofagia en el ser humano, divididos en 5 grupos funcionales: El complejo ULK1 Kinasa, el complejo cíclico ATG9, el complejo Vps34/PI3 kinasa, el homólogo de ATG18--unión lipídica y las proteínas similares a la ubiquitina (ATG12 y ATG18/LC3 y su sistema de conjugación),²¹⁹ que desarrollan el proceso de autofagia de forma secuencial, a través de la inducción, elongación, formación del autofagosoma, maduración y degradación lisosomal.



Mecanismo de actuación de la autofagia: Formación sucesiva de las diferentes entidades relacionadas con la autofagia: fagosoma, autofagosoma nascente, inmaduro y maduro y finalmente autolisosoma. Se mencionan los diferentes genes ATG involucrados en cada uno de los pasos formativos.

Figura 12: Mecanismo de actuación de la autofagia.²²⁰

La autofagia constituye un mecanismo a través del cual ciertas sustancias del citoplasma celular pueden ser renovadas mediante la formación de macromoléculas citoplasmáticas que, a su vez, pueden movilizarse para generar componentes ricos energéticamente al objeto de solventar la demanda bioenergética en situaciones de falta de aporte exógeno o aumento del requerimiento interno. Se trata por tanto de un mecanismo predominantemente citoprotector más que autodestructivo.²²¹ Por lo que la autofagia puede mediar como mecanismo protector en múltiples modelos de daño orgánico con afectación hepática,²²² cardíaca,²²³ del sistema nervioso²¹⁸ y renal.²²⁴

En las levaduras, la autofagia es de vital importancia para la supervivencia en circunstancias de carencias nutricionales, ya que favorece la reutilización de macromoléculas que sirven como fuente de nutrientes y energía. Otra de las funciones principales de la autofagia se relaciona con su capacidad para degradar ciertas sustancias que incluyen agregados de proteínas intracitoplasmáticas que se han relacionado con enfermedades neurodegenerativas, como son la mutación de alfa sinucleína (relacionada con formas de enfermedad de Parkinson), la proteína tau (implicada en la enfermedad de Alzheimer) y la proteína relacionada con la poliglutamina como una mutante de la huntingtina (que causa la enfermedad de Huntington). En modelos de ratones, se ha comprobado que la inhibición de la autofagia favorece la agregación de dichas proteínas en el citoplasma celular.²¹⁸

La autofagia resulta así mismo esencial en el mantenimiento de la homeostasis de las organelas celulares, principalmente de la mitocondria. Las mitocondrias disfuncionantes, que han perdido su potencial de membrana y son más propensas a liberar mediadores proapoptóticos tóxicos y especies de oxígeno reactivo tóxicas, son eliminadas de forma selectiva a través de la autofagia. Por último, a través de la autofagia se consigue la degradación de ciertas bacterias y virus, jugando un papel protector para ciertas enfermedades infecciosas.²¹⁸

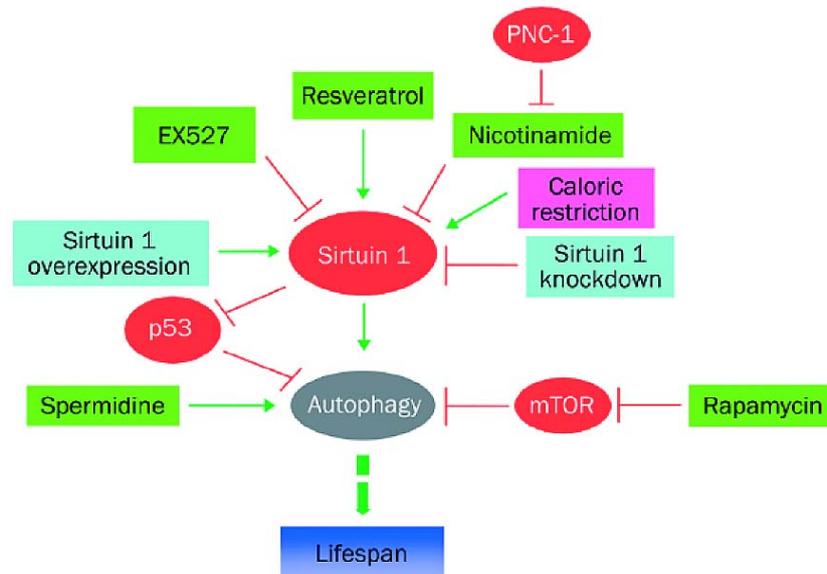
1.4.5.2. AUTOFAGIA Y ENVEJECIMIENTO.

Más allá de su función como mecanismo adaptativo individual de las células en situaciones de necesidad, la autofagia tiene un papel importante en la esperanza de vida de muchos modelos orgánicos.

La primera evidencia que relacionó a la autofagia con el envejecimiento y la longevidad, se presentó en un estudio realizado sobre *C.elegans* (*Caenorhabditis elegans*), un nematodo de pequeño tamaño. La inhibición de la vía del factor de crecimiento insulínico (IGF-1) causada por la autofagia, así como la inhibición de la autofagia a través de una mutación en los genes ATG, prevenía la ganancia de longevidad en dicha especie.²²⁵

La restricción calórica, que consiste en una disminución de la ingesta alimenticia sin desencadenar malnutrición, es un factor de intervención clave en los estudios de longevidad desarrollados sobre diferentes especies. Dicha intervención se ha relacionado con una disminución en la incidencia de diabetes, enfermedad cardiovascular, cáncer y atrofia cerebral.²²⁶ Esto mismo se ha observado en estudios epidemiológicos realizados en humanos. La restricción calórica es el inductor más potente de la autofagia²²⁷ y la inhibición de la autofagia previene los efectos antienvjecimiento de la restricción calórica en todas las especies investigadas al respecto. Dependiendo de como se establezca la restricción calórica: nutrición intermitente frente reducción crónica de la ingesta, a edades infantiles o adultas, y de su nivel de intensidad, esta induce la autofagia a través de la activación de dos sensores energéticos, AMPK (Activated protein kinase)^{228,229} y Sirtuina 1 (SIRT1), que se ensamblan en una especie de asa de activación positiva mutua.²³⁰ Paralelamente, la restricción calórica puede inducir autofagia mediante la inhibición de la señalización del complejo Insulina/factor de crecimiento insulínico (IGF) que a su vez inhibe a mTOR (mammalian Target of Rapamycin).²³¹

Aunque de forma fragmentaria, existe cada vez más evidencia de que la manipulación genética o farmacológica que resulta en un incremento de la longevidad estimula la autofagia y que esta es muchas veces, si no siempre, un factor mediador de primera línea en dicho proceso (Figura 13).^{220,232}



Factores modificadores de la autofagia. En flechas verdes, inductores. En rojas, inhibidores. Se definen los 3 principales mediadores de la autofagia (Sirtuina 1, mTOR y p53) y como esta se relaciona con la longevidad.

Figura 13: Regulación de la autofagia en diferentes modelos de manipulación genética y farmacológica.²³²

La autofagia desempeña un papel fundamental en la *homeostasis proteica (proteostasis)* y en el "turnover" de las organelas. Dicho papel es de particular importancia en las células no proliferativas, ya que en dichas células no existe dilución mediada por la división de restos intracelulares. Los efectos antienvjecimiento de la citoprotección son particularmente relevantes para las células que no son reemplazadas a partir de células madre.

Favorece la eliminación de agregados proteicos tóxicos: El mal ensamblaje proteico intracelular y la agregación proteica son los hallazgos cardinales en muchas enfermedades neurodegenerativas denominadas proteinopatías. Estas enfermedades incluyen la enfermedad de Alzheimer, el Parkinson, las taupatías, y enfermedades por expansión de la poliglutamina como el enfermedad de Huntington. Varios inductores experimentales de la autofagia como la rapamicina, el valproato, rapálogo y el litio, pueden atenuar la proteína huntingtina mutada y la muerte celular en modelos de enfermedad de Huntington.²¹⁸ La estimulación de la autofagia favorecida por la rapamicina, podría resultar útil para el tratamiento de otras proteinopatías intracelulares, como aquellas relacionadas con la proteína tau.²¹⁸ La inhibición de TOR mediante la sobreexpresión transgénica de TSC1 y TSC2 (Tuberous sclerosis 1 and 2--hamartin and tuberin), estimula igualmente el aclaramiento de la proteína huntingtina en vivo en neuronas fotorreceptoras de *Drosophila*, un efecto similar se observa con la sobreexpresión de ATG1.²³³ La sobreexpresión de TSC1 y TSC2 podría impedir la acumulación de complejos citosólicos resultantes de la neurodegeneración, inducida por la mutación de de la fosforilasa del gen C norpA (no receptor potencial A),²³³ lo que una vez más, avala la teoría de que la autofagia podría atenuar la proteotoxicidad. Los agregados proteicos se acumulan igualmente en células sin capacidad de división, principalmente a nivel neuronal a lo largo del envejecimiento. Sin embargo no se ha demostrado que dichos agregados sean los causantes del proceso de envejecimiento, o que simplemente sean un reflejo del mismo, ni como los efectos antienvjecimiento de la autofagia podrían explicarse mediante la eliminación de dichos cuerpos de inclusión.

La autofagia mejora la función mitocondrial: Básicamente la fisión mitocondrial se produce de una forma asimétrica, por un lado una mitocondria funcional puede sufrir sucesivas fusiones y fisiones, por el otro una mitocondria disfuncionante, con un bajo potencial de membrana es objeto de destrucción mediante autofagia.²³⁴ Este mecanismo, contribuye a un proceso de control de la calidad mitocondrial mediado por la autofagia. Una de las teorías más comúnmente aceptadas sobre el envejecimiento, plantea que el daño progresivo en el ensamblaje mitocondrial produce una insuficiencia bioenergética, así como, un incremento en la producción de especies de oxígeno reactivo (ROS).²³⁵ La inhibición de la autofagia podría resultar un mecanismo esencial en dicho proceso a través del deterioro de la función mitocondrial, lo que ya ha sido demostrado en especies no mamíferas y en ratones: el aislamiento mitocondrial de células postmitóticas deficientes en ATG provoca una deficiente fosforilación oxidativa, lo que a su vez conduce a un cambio en el metabolismo celular, transformándose este de respiratorio a glucolítico.²³⁶ Igualmente, las mitocondrias del cuerpo estriado de ratones deficientes de PINK1 (PTEN-induced putative kinase 1) se muestran carentes de complejos I y II,²³⁷ lo que podría ser fundamental en modelos relacionados con la enfermedad de Parkinson.

Disminuye la muerte celular y mejora la hormesis: La autofagia es un mecanismo mediante el cual se eliminan células apoptóticas no deseadas y células postmitóticas muertas. La inducción de la autofagia conlleva la liberación de Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) por parte del complejo Beclin 1 y FLIP (Flice inhibitory protein), que posteriormente quedan disponibles para el bloqueo agudo de la vía intrínseca y extrínseca de la apoptosis.^{238,239} A parte de la importancia de la autofagia para mantener el "control de calidad" de las organelas y para eliminar proteotoxinas potenciales, uno de los mecanismos principales de la misma consiste en la capacidad para recuperar células dañadas, cuyas mitocondrias alteradas entrarían en apoptosis o necrosis.²⁴⁰ La permeabilización de la membrana mitocondrial (MMP) es uno de los pasos autolimitantes de la muerte celular. Si la mayoría de las mitocondrias dañadas son retiradas selectivamente mediante autofagia, las restantes poseerán un mayor umbral para la MMP, mayor resistencia a la liberación del citocromo C y una producción ROS disminuida.

A través de ese y otros mecanismos relacionados, la autofagia puede participar en la hormesis, el fenómeno mediante el cual, las células, los órganos y los organismos resisten condiciones letales después de haber sido sometidos a un daño subletal. Uno de los principales ejemplos de la hormesis lo constituye el daño isquémico: la exposición del cerebro o el corazón a cortos episodios de isquemia que vuelve a dichos órganos relativamente resistentes contra un ictus o un infarto posterior. La autofagia participa de forma beneficiosa en dichos efectos preconditionantes.^{223,241} Algún autor como Le Bourg ha postulado que la hormesis podría determinar la longevidad y la mortalidad.²⁴² Dado que la autofagia es uno de los mecanismos efectores de la misma, a través de mecanismos de limpieza de las organelas dañadas,¹⁵⁴ la relación entre la autofagia y la longevidad se podría establecer a través de la hormesis.

En las células proliferativas, la autofagia no solo produce efectos citoprotectores como los descritos en las células postmitóticas, sino que probablemente juega un papel primordial en la evasión de la transformación maligna, así como posiblemente en el mantenimiento de la células madre.

La disminución progresiva numérica y funcional de las células madre tisulares puede contribuir al fenotipo de envejecimiento. En ratones añosos, la rapamicina aumenta la longevidad²⁴³ y simultáneamente restaura las células madre hematopoyéticas, mejorando consecuentemente el sistema inmune.²⁴⁴ De forma similar, la rapamicina puede revertir la pérdida de células madre del folículo piloso que sobreexpresan Wn1, bajo el control de un promotor inducible, evitando la

subsecuente alopecia.²⁴⁵ Sin embargo, la activación de mTOR a través de una delección condicional de TSC1 en las células madre hematopoyéticas de los ratones jóvenes, mimetiza este fenotipo de las células madres hematopoyéticas de ratones añosos, lo que lleva a un relativo decremento de la linfopoyesis, constituyendo una reducción de la capacidad reconstructiva del sistema hematopoyético, así como produciendo un incremento de la expresión de los inhibidores de CDK p16(Ink4a), p19 (Arf) y p21 (Cip1), que constituyen marcadores potenciales de senectud celular.²⁴⁴

Supresión de oncogenes: Varios oncogenes, entre otros Akt1 activado, PI3K y proteínas antiapoptóticas de la familia de Bcl-2, suprimen la autofagia. Por otra parte, múltiples supresores tumorales como BH3, DAPK1, PTEN, TSC1 y TSC2 y LKB1/STK11 estimulan la autofagia, lo que favorece el balance. Beclin-1, que resulta esencial para la inducción de la autofagia, actúa como un supresor tumoral haploinsuficiente. Otros mediadores esenciales de la autofagia como ATG4c, AMBRA 1, UVRAG y bif-1 se comportan como supresores tumorales, ya que su inactivación genética en modelos de ratones incrementa la frecuencia de tumores.²⁴⁶ La autofagia puede suprimir la oncogénesis a través de diferentes mecanismos, como son la mejoría en el control mitocondrial, la reducción de la inestabilidad genética y la eliminación autofágica de proteínas potencialmente oncogénicas como p62/SQTM1.²⁴⁷ Igualmente, la autofagia es sobrerregulada por la presencia del oncogen H-rasV12, inductor de senectud²⁴⁸ y mediante la apoptosis,²⁴⁹ lo que sugiere que la autofagia puede contribuir a la supresión tumoral a este nivel.

Mejora la respuesta inmune innata e inflamatoria: La autofagia desempeña un papel fundamental en el control de los microorganismos intracelulares a través de la xenofagia, la respuesta de las células no autónomas contra la invasión de patógenos.²⁵⁰ Por otro lado, mediante la eliminación de determinantes antigénicos celulares puede mejorar la presentación cruzada de antígenos de células muertas a través de las células dendríticas, quizás porque los autofagosomas transportan antígenos a las células dendríticas a través de mecanismos no elucidados hasta la fecha²⁵¹ o por la inducción de altas cargas de interferón I.²⁵² Más aún, en las células dendríticas la autofagia mejora la presentación antigénica.²⁵³ Igualmente varios de los principales efectores inmunes, incluyendo los linfocitos T, dependen de la autofagia para mantener su función.²⁵⁰

La autofagia puede mitigar las reacciones inflamatorias mediante varios mecanismos. En las células moribundas es necesaria para optimizar el aclaramiento mediado por macrófagos de restos apoptóticos, reduciendo consecuentemente la reacción inflamatoria.²²⁷ Con la eliminación celular apoptótica, la autofagia es en ocasiones inducida hasta los últimos estadios del proceso apoptótico, que se caracteriza por la activación de las caspasas. La autofagia es igualmente esencial para el mantenimiento de los niveles de ATP intracelular, lo que finalmente es necesario para la secreción de la señal "find-me" ("encuéntrame") de la lipofosfatidilcolina, así como para una eficiente exposición de la señal "eat-me" ("cómeme") de la propia fosfatidilcolina en las células moribundas. Esto explica como la autofagia puede estimular respuestas inflamatorias secundarias a la insuficiente eliminación de células muertas.²⁵⁴ Más aún, la inutilización de la autofagia provoca la acumulación de p62/STQM1, que puede activar el factor de transcripción proinflamatorio NF-κB y el factor de transcripción de respuesta al estrés NRF2, lo que favorece la inflamación y el daño tisular.²⁵⁰

Por otra parte, la autofagia puede inhibir la señalización proinflamatoria vía receptores RIG-I-like, a través de la conjugación directa de los receptores de los complejos ATG12-ATG5 y mediante la eliminación de mitocondrias disfuncionantes.²⁵⁵ La autofagia puede igualmente inhibir la activación del inflammasoma NLRP3, el complejo de activación caspasa 1 requerido para la

producción de la IL1 β , a través de la retirada de permeabilizantes o ROS de origen mitocondrial.^{256,257} Dado que el proceso neurodegenerativo y el envejecimiento patológico generalmente se asocian a inflamación crónica, estos efectos antiinflamatorios de la autofagia podría constituir beneficios adicionales para la salud. Así mismo, los datos actuales sugieren que la autofagia podría contribuir a mejorar la eficacia en el reconocimiento de patógenos a través de efectores inmunológicos y reduciendo ciertas reacciones inflamatorias.

Efectos neuroendocrinos de la autofagia: La ausencia o la presencia de autofagia no sólo afecta a la fisiología celular, sino también a las comunicaciones intercelulares, modificando por lo tanto al proceso de envejecimiento de una manera no autónomamente celular. Más allá del funcionamiento celular endocrino dependiente de la autofagia, como es el caso de las células beta productoras de insulina,²³⁶ una deficiente autofagia, compromete la respuesta hormonal tisular, por lo que los errores en la autofagia sobrevenidos con el envejecimiento podrían contribuir al desarrollo de diabetes tipo 2. La supresión hepática de ATG7 conlleva estrés del retículo endoplasmático y resistencia a la insulina.²⁵⁸ La sobreexpresión de FOXO o de su diana 4E-BP en los músculos de las moscas, evita el deterioro asociado a la edad mediado por la autofagia e incrementa la longevidad mientras se reduzca la ingesta alimenticia y la liberación insulínica por parte de las células neurosecretoras,²⁵⁹ lo que sugiere que el mantenimiento de una nivel normal de autofagia en un órgano concreto, puede afectar positivamente al resto del metabolismo corporal.²⁶⁰ De forma similar, la sobreexpresión de dSIR2 (*Drosophila* Sir2) a nivel neuronal es suficiente para aumentar la longevidad en las moscas, tanto como la expresión de dSIRs bajo el control de un promotor ubicuo,²⁶¹ lo que sugiere que la inducción de la autofagia en ciertas poblaciones neuronales específicas puede ser suficiente para reducir el envejecimiento patológico.

1.4.5.3. EVIDENCIAS QUE RELACIONAN A LA AUTOFAGIA Y EL ENVEJECIMIENTO.

La reducción de la autofagia se ha visto relacionado con el envejecimiento acelerado, mientras que la estimulación de la misma podría tener un efecto antienvjecimiento significativo.²⁶²

La importancia de la autofagia en el envejecimiento viene refrendada por varias evidencias científicas:

- Las proteínas relacionadas con la autofagia y la actividad de la misma disminuye con la edad, una de las principales características de las células seniles es la acumulación de proteínas anómalas en el citosol; de entre los sistemas encargados de la eliminación de estas proteínas, los lisosomas son el sistema proteolítico que más se ve afectado por la edad.²⁶³
- Un estudio de cribado genético mediante *microarrays* desarrollado en levaduras, ha demostrado que aquellas que presentan ciertas mutaciones de genes implicados en la autofagia acortan su esperanza de vida.²⁶⁴
- La autofagia se ha demostrado esencial para ciertos modelos de envejecimiento modificados genética o farmacológicamente.

La macroautofagia puede desempeñar un papel fundamental en la longevidad y el envejecimiento saludable. Aunque dos cuestiones permanecen sin responder hasta el momento, por un lado, la autofagia no constituye un simple proceso de degradación de materia mediado por un único grupo de estímulos, ya que puede involucrar la degradación selectiva de organelas

como mitocondrias disfuncionantes, así como de varios agentes infecciosos utilizando maquinaria y señales alternativas, lo que favorece la posibilidad de encontrar vías y sustratos específicos de autofagia con propiedades antienviejimiento.²²⁰ Por otro lado, todas las manipulaciones farmacológicas y genéticas de la autofagia puede tener repercusión fuera de la misma, así los productos de los genes ATG desarrollan múltiples funciones fuera de la autofagia, lo que implicaría que la sobreexpresión o la ablación de los mismos podría tener efectos sobre el envejecimiento no propiamente relacionados con la autofagia.

A pesar de estas limitaciones, es posible que el proceso de envejecimiento dependa de uno o varios círculos viciosos que causen un progresivo deterioro de la autofagia. A nivel celular, el déficit de autofagia compromete la degradación de sustratos en la vía del ubiquitin-proteosoma debido a la acumulación de p62/SQSTM1, lo que aumenta los niveles de proteínas reguladoras de semivida corta como p53,²⁶⁵ que así mismo podría inhibir la autofagia²⁶⁶ e inducir envejecimiento celular. Igualmente, el defecto de la autofagia a nivel cerebral puede estimular una sistemática rotura en la homeostasis neuroendocrina que acelera el deterioro físico y neurológico. El defecto en la autofagia puede también favorecer la acumulación de lipofuscina y complejos lipídicos que a su vez potencian la inhibición de la autofagia.²⁶⁷

Los datos que favorecen los efectos antienviejimiento de la autofagia se basan en estudio de modelos animales que difieren en causas de muerte y longevidad con los humanos. Estudios similares en población humana se encuentran limitados por la incapacidad para manejar el flujo autofágico.²²⁰ Sin embargo, es posible que los procesos fisiológicos asociados a la longevidad de modelos animales puedan proteger frente a enfermedades que los afectan. De hecho, las principales causas de muerte en la población de los países desarrollados son la enfermedad cardiovascular, la demencia o el cáncer, y estas pueden relacionarse con la inhibición de la autofagia y ,quizás, podrían reducirse mediante la sobrerregulación de la misma. Igualmente el estímulo de la autofagia incluso a edades relativamente maduras, podría resultar beneficioso como se ha demostrado en ratones: la rapamicina en ratones de mediana edad aumenta la esperanza de vida de dicha población,²⁴³ y un periodo de solo 3 meses de restricción calórica, puede mejorar la memoria verbal en humanos sanos,²⁶⁸ lo que sugiere que las medidas proautofagia podría reducir el deterioro tiempo dependiente, e incluso proporcionar un rejuvenecimiento transitorio si se desarrolla en ancianos sanos.

Las pautas de actuación para estimular la autofagia no están totalmente establecidas, por ejemplo, el ayuno intermitente alternando con días de comidas copiosas, podría incrementar la longevidad en poblaciones de roedores, evitando los efectos deletéreos a nivel de densidad mineral ósea de la restricción calórica estricta.²⁶⁹

1.4.6. GENES REPARADORES DE DNA Y ENVEJECIMIENTO.

1.4.6.1. IMPORTANCIA DE LOS GENES REPARADORES DEL DNA.

Los genes reparadores del DNA son esenciales para el correcto funcionamiento celular. Varios tipos de agentes exógenos y endógenos pueden dañar el DNA, induciendo inestabilidad genómica y mutagénesis. Se cree que cada día se producen entre 50000 y 100000 lesiones oxidativas del DNA en las células de los mamíferos. Al objeto de mantener la integridad genómica, las proteínas codificadas por los genes reparadores detectan lesiones del DNA, activando la parada de ciclo celular e iniciando el proceso de reparación del DNA.²⁷⁰

1.4.6.2. SUBTIPOS DE MECANISMOS REPADORES DEL DNA.

Los mecanismos de reparación del DNA son varios y actúan de forma imbricada, de estos, los cuatro más importantes son BER (Base excision repair), NER (Nucleotide excision repair), MMR (Mitch match repair) y DSBR (Double strand breaks repair)²⁷¹, a continuación exponemos brevemente cada uno de ellos.

Mecanismos de reparación directa:

La reparación de los dímeros de pirimidina inducidos por la radiación ultravioleta se lleva a cabo a través de la fotoliasa, mientras que la reparación de la lesiones de metilguanina⁰⁶, lo hacen mediante la MGMT (Metilguanina DNA metiltransferasa). Esta segunda enzima presente en las células humanas,²⁷² reconoce el daño y se une a el, cediendo un anillo metilo que actúa sobre la cisteína de una manera irreversible.²⁷³ En ciertos estudios de envejecimiento, se ha observado una disminución de la actividad de dicha enzima con el devenir del mismo²⁷⁴ más aún, la sobreexpresión de dicha enzima (MGMT) en ratones se asocia a un incremento de la longevidad.²⁷⁵

MMR (Mith match repair):

Corrige las alteraciones relacionadas con bases no apareadas correctamente como consecuencia de errores de replicación,²⁷⁶ imperfecciones en la recombinación y fallos en la deaminación de la 5-metilcitosina. Así mismo, se cree que podría influir en la reparación de lesiones oxidativas del DNA, si bien esta sospecha aún no ha sido totalmente corroborada.²⁷⁷ Resulta de suma importancia en situaciones de replicación rápida, siendo un mecanismo de seguridad dirigido a corregir los fallos replicativos inducidos por DNA polimerasa.

Se ha objetivado que dicho proceso reparativo influye de manera relevante en el envejecimiento, observándose un descenso de las proteínas relacionadas con el mismo con el paso de los años.^{278,279}

NER (Nucleotide Excision repair):

Repara lesiones groseras del DNA inducidas por compuestos químicos, así como las que producen uniones covalentes entre dos pirimidinas adyacentes inducidas por la radiación ultravioleta.²⁸⁰ Esta vía reparativa se encuentra implicada en los síndromes progeroides como el síndrome de Cockayne y el Xeroderma Pigmentosum.²⁸¹ Parece que con el envejecimiento, existe un tendencia al fallo en esta vía reparativa aunque los estudios hasta la fecha son contradictorios.^{282,283}

DSB repair (Double strand breaks repair) HR y NHEJ (homologous recombination repair y non-homologous end-joining repair):

Reparan lesiones producidas en la doble hebra del DNA (DSB-Doble Strand Breaks), las cuales son lesiones letales en las células que se dividen. Estas lesiones provocan el desplazamiento de un segmento cromosómico, lo que favorece el reordenamiento de los mismos con el consiguiente acortamiento de la vida celular.²⁸⁴

Genes implicados en la reparación de DSB se relacionan con síndromes progeroides como la Ataxia telengectasia y el síndrome de Werner.²⁸⁵ El gen WRN, responsable del síndrome de Werner y que forma parte del complejo reparador del DNA de las REq helicasa, se asocia de forma estrecha con mecanismos de reparación de DSB, siendo además un sustrato de DNA-PK la cual resulta de suma importancia en NHEJ.²⁸⁶

La disfunción en la reparación de DSB repair se asocia a un incremento del reordenamiento genético asociado al envejecimiento.²⁸⁷

BER (Base excisión repair):

Se trata de un mecanismo de reparación esencial para solventar las lesiones inducidas por radicales de oxígeno. Dentro del mecanismo implicado en la reparación mediante el sistema BER se reconocen dos vías principales de actuación, SP-BER (Short-Patch-BER) y LP-BER (Long-patch BER). En la vía SP-BER se incluyen entre otros la proteína del gen XRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein 1).²⁸⁸ Por otra parte, se sabe que el mecanismo de actuación de esta vía reparativa es diferente en las células mitóticas que en las postmitóticas y que dicha deficiencia implica principalmente la vía LP-BER,²⁸⁹ lo que hace a las células somáticas más vulnerables a las lesiones inducidas por el estrés oxidativo.

Reparación del DNA mitocondrial:

El DNA mitocondrial se encuentra expuesto a altos niveles de radicales libres de oxígeno debido a su relación con la fosforilación oxidativa, lo que aumenta el riesgo de daño oxidativo.

La reparación del DNA mitocondrial depende principalmente de los sistemas MMR y BER. No obstante, el mecanismo de BER que actúa sobre el DNA mitocondrial es diferente al que lo hace sobre el DNA nuclear, con implicación de proteínas diferentes. A modo de ejemplo, en la reparación del DNA-m no interviene XRCC1. De forma similar a lo que ocurre con la reparación del DNA-n, se ha observado una disminución de la actividad de BER-m con el envejecimiento.

El desarrollo de mutaciones del DNA mitocondrial así como la disfunción mitocondrial, inducidos por especies de radicales de oxígeno y fallos en el proceso de reparación del DNA, juegan un papel fundamental en el proceso de envejecimiento.²⁹⁰⁻²⁹²

La disfunción mitocondrial se ha visto involucrada como uno de los mecanismos asociados al envejecimiento precoz en los pacientes con enfermedad de Down, pudiendo así mismo justificar la aparición de Enfermedad de Alzheimer a edades precoces en dicha población.

En el síndrome de Cockayne, se piensa que además de errores en la reparación del DNA relacionados con NER, y BER, se incluyen alteraciones en la reparación del DNAm, concretamente a nivel de BER-m, ya que el gen mutado responsable de la enfermedad (CSB-Cockayne syndrome B gene), influye directamente en el mantenimiento del DNA-m, a través de una interacción en esta vía reparativa.

Las RECq helicasa resultan esenciales para asegurar la correcta estructura de la hélice de DNA durante la reparación del mismo.²⁷¹ Conforman un grupo de proteínas, en concreto 5 en la

especie humana, que se han revelado de suma importancia para la estabilidad del genoma,²⁹³ de ahí su relevancia en procesos oncológicos y en el envejecimiento. Varias mutaciones en dos genes de las RecQ helicasa (WRN y RECQL4 (RecQ helicase-like 4) pueden causar síndromes de envejecimiento precoz (progeria) como los síndromes de Werner y de Rothmund-Thomson.^{294,295} El síndrome de Bloom, relacionado con una mutación en el gen BLM, se asocia a un fenotipo de envejecimiento precoz y a aumento de la susceptibilidad para sufrir tumores.²⁹⁶ A través de estudios en ratones se ha llegado a la conclusión de que el gen WRN se podría relacionar con la longitud de los telómeros.²⁹⁷ Trabajos similares han observado que a parte de la inestabilidad genómica ya conocida los ratones deficientes de RECQ4, estos presentaban una alta frecuencia de separación prematura de los centrómeros y de aneuploidía, lo que parece asociarse a un papel de dicho gen en la cohesión de la cromatina.²⁹⁸ En relación con el gen RECQ5, los ratones con infraexpresión de dicho gen, presentaban lesiones del tipo DSBs, DSBR y HR repair,²⁹⁹ lo que avala una vez más la interrelación de las diferentes vías reparativas del DNA.

WRN y BLM se han relacionado funcionalmente con BER a través de estudios in vitro principalmente a nivel de LP-BER,³⁰⁰ WRN y RECQ4 se relacionan con proteínas de la vía SSBR³⁰¹. El déficit de WRN se caracteriza por la tendencia a la hiperoxidación³⁰², lo que favorece el acúmulo de proteínas carboniladas, y esto a su vez, se involucra en la fisiopatología de la producción de catarata³⁰³ y sarcomas con la colaboración de NBS1 (Nijmegen breakage syndrome) una de las proteínas del complejo DSBR.³⁰⁴

Uno de las principales funciones de las RecQ helicasa consiste en su capacidad para estabilizar el complejo replicativo, con el fin de facilitar la reparación del DNA y promover el reinicio de la replicación, gracias a la colaboración de otras proteínas como A (RPA), PCNA, DNA Pol δ y FEN1.³⁰⁵

Igualmente, las RecQ helicasa se relacionan de forma notoria con procesos de reparación tipo DSB repair, a través de diferentes proteínas (WRN, RECQ4, RECQ5), así como en el mantenimiento de los telómeros.²⁷¹

Mecanismos adicionales afectan a la estabilidad de los telómeros. Los telómeros se van acortando con cada replicación en aquellas células que carecen de telomerasa, hasta que adquieren un tamaño crítico que condiciona la entrada en senectud celular.^{306,307} El acortamiento telomérico se asocia con el envejecimiento del organismo: en humanos, la longitud de los telómeros leucocitarios se relaciona de manera inversa con la edad^{308,309} y se asocia con un incremento de riesgo de enfermedad y mortalidad.³¹⁰⁻³¹²

1.4.6.3. GENES REPARADORES DEL DNA Y ENVEJECIMIENTO.

La importancia de la integridad del genoma humano en el envejecimiento viene refrendada por al menos dos evidencias constatadas: por una parte, los bajos niveles de radiaciones ionizantes pueden acelerar el envejecimiento y disminuir la esperanza de vida en los ratones,³¹³ por el otro, en el estudio de los síndromes progeroides, se ha observado que los mecanismos principales responsables de los mismos son los fallos en la reparación del DNA.³¹⁴

En conjunto los mecanismos de reparación del DNA son esenciales para la estabilidad genética, la cual resulta fundamental en el proceso de envejecimiento y la longevidad desde los nematodos hasta los humanos.^{290,294,315-318}

Estudios de investigación animal, han demostrado que la sobreexpresión o la delección de algunos de los genes relacionados con el envejecimiento del organismo como POLB (Polymerase DNA directed beta), RAD52 y TP53³¹⁹ y variante genéticas comunes en humanos, se han asociado con la longevidad como el caso de WRN y MLH1 (MutL homolog 1).^{320,321}

Un estudio realizado sobre población del estudio Framingham (FHS), que incluyó una cohorte de 1173 participantes de 617 familias,²¹⁰ encontró una asociación inicial de 169 SNPs con la longevidad, tras contabilizar el efecto familiar de dicha asociación el número de SNPs se redujo a 39, de ellos tres, NTHL1, TERF1P3 y ATRIP, implicaban genes involucrados en la reparación del DNA.

Otro estudio GWAS realizado en 801 centenarios relacionó la longevidad únicamente con un SNP en el gen APOE.¹⁴⁶ Un análisis posterior, usando un modelo de riesgo genético que consistía en una agrupación no limitada de SNPs, relacionó un grupo de 281 SNPs como predictor de longevidad excepcional. En dicho grupo, se incluían SNP de genes como WRN, y RAD51L1, relacionados con la reparación del DNA. Por otro lado, un análisis similar que incluyó un grupo de 38 y 24 SNPs, se asoció con la posibilidad de enfermedad de Alzheimer y enfermedad coronaria respectivamente, en ambos grupos se incluían SNPs en WRN.

Un metaanálisis de cinco estudios similares utilizando tres modelos genéticos, realizado cuatro de ellos sobre población caucásica y uno en población japonesa asoció 16 SNPs con la longevidad en los estudios realizados en caucásicos, uno de los cuales fue un SNP en el gen LMNA.¹⁴⁷ Tras la inclusión en el análisis de la población japonesa, el número de SNPs se redujo a seis, incluyéndose un SNP en el gen WRN. Curiosamente dichos genes se encuentran implicados en dos de los síndromes progeroides más conocidos: el síndrome de Werner y el Síndrome de Hutchinson-Gilford.

Dos estudios de genes candidatos asociaron el gen WRN con la ausencia de morbilidad a los 65 años y con la longevidad en el primero²⁰⁸ y solo con la longevidad el segundo.³²²

Uno de los pocos trabajos realizados con genes reparadores del DNA en el ámbito de el envejecimiento/longevidad, que además de la relación asociativa con la misma ha verificado la presencia de una alteración funcional del gen implicado, fue un estudio que encontró asociación en el SNP rs1776180 del gen EXO1 (Exonuclease 1).³²³ La presencia del alelo C en dicho polimorfismo, aumenta la expresión de EXO1 en el RNAm de las células linfoblastoides, así como la actividad promotora de EXO1, a través de la pérdida de unión del factor de transcripción E47, que actúa como represor de EXO1.

Igualmente el SNP rs189037 del gen ATM (Ataxia telangiectasia mutated) se ha asociado a longevidad en diferentes poblaciones.³²⁴ En uno de esos estudios se objetivó que el alelo T provoca una pérdida de la unión de AP2 α que actúa como supresor del gen ATM, lo que lleva consigo el aumento de la expresión del RNAm. Además del incremento de la esperanza de vida, se ha observado que los portadores de alelo T de dicho SNP presentan menor riesgo de enfermedad coronaria.

Ciertos SNP de SIRT1 y SIRT3 se han asociado con la longevidad, en uno de los estudios se demostró la asociación de un polimorfismo de SIRT1 con la reducción de la mortalidad por todas las causas tanto en mujeres como en varones.³²⁵ Otro trabajo relacionó SNPs de SIRT1 y XRCC6 con la longevidad y la longitud de los telómeros; así mismo, se demostró que ambos genes actuaban de forma independiente.¹⁵⁹ Por otra parte, otros estudios han demostrado la asociación de SIRT3 con la longevidad: uno de ellos no se confirmó en un metaanálisis posterior.³²⁶ El segundo asoció un SNP de dicho gen con la longevidad femenina, observándose un aumento de la expresión del gen en células mononucleares periféricas.³²⁷

Un estudio realizado en una población danesa sobre 1089 ancianos con un grupo control de 736 personas de mediana edad, posteriormente cotejado en una población alemana similar a la previa, investigó la asociación de 77 genes reparadores del DNA divididos en un total de 9 subgrupos,¹⁹⁸ valorando inicialmente la asociación global con la longevidad, y posteriormente aplicándose un método de agrupación de genes³²⁸ para valorar si alguno de los 9 subprocesos se asociaba más que los otros a la longevidad. La parte inicial del estudio demostró una asociación global de todos los genes con la longevidad, lo que avala la importancia de dichos genes en el proceso de envejecimiento. En el subsecuente análisis competitivo de grupos de genes, se encontró una asociación significativa entre la longevidad y los mecanismos de reparación BER (Base excision repair), HRR (Homologous recombinational repair) y RECQ (RecQ helicase activities). Tras una corrección posterior solo HRR continuaba alcanzando significación estadística. Nuevamente se destacan las limitaciones del tamaño muestral y la implicación conjunta/acumulativa de los diferentes genes en una o varias vías ya consabida a estos estudios.

1.5. POLIMORFISMOS: CONCEPTO Y APLICACIONES CLÍNICAS.

Los polimorfismos genéticos constituyen variaciones en la secuencia del DNA que se detectan en al menos el 1% de los individuos de una población.³²⁹ Se ha estimado que hay una variante en cada 1.000 pares de bases de los 3.000 millones que configuran el genoma humano. Constituyen la base de la evolución, los que se consolidan pueden ser silentes, proporcionar ventajas a los individuos o contribuir a causar enfermedades. Para que un locus sea considerado polimórfico, el alelo más común de dicho locus debe tener una frecuencia poblacional menor del 99% y, además, de acuerdo con la ley de Hardy-Weinberg, al menos un 2% de la población debe ser heterocigota para ese locus.³³⁰

A diferencia del DNA codificante, en el que se ha observado muy poca variabilidad individual, el DNA no codificante, al no estar sujeto a presión selectiva intensa, puede soportar grandes niveles de variabilidad sin que se produzca una repercusión fenotípica significativa. Este hecho ha convertido a este tipo de DNA en la mayor fuente de investigación de polimorfismos.³³¹

El progresivo desarrollo de diferentes técnicas analíticas para el estudio de estos polimorfismos genéticos ha permitido diferenciar distintas formas alternativas que pueden tener cada uno de ellos, lo que ha motivado que se puedan utilizar como marcadores genéticos. Los polimorfismos más variables y de mayor aplicación clínica son los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) y los polimorfismos de repetición (VNTR).³³²

Un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) es una variación en la secuencia de DNA que afecta a una sola base. Constituyen hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas y se pueden encontrar tanto en regiones codificantes del DNA como en regiones no codificantes (la gran mayoría).³³²

Si el cambio de un único nucleótido ocurre en una zona codificante puede provocar un cambio de aminoácido en la proteína y ello puede resultar en una modificación de su actividad o función. Los cambios también pueden ocurrir en zonas promotoras de un gen y modificar su expresión. Estas zonas promotoras modulan el proceso de transcripción del DNA en DNA. Lo mismo puede ocurrir si el cambio se produce en un intrón. Aunque los intrones no se traducen a proteínas, cambios en su estructura pueden modular la expresión del gen. Otras veces, probablemente la mayoría, los cambios son silentes y no tienen repercusiones funcionales. Mientras que sólo estudios moleculares específicos pueden poner de manifiesto si los polimorfismos son funcionales, los estudios epidemiológicos son fundamentales para valorar si hay efectos en la salud de la población.^{333,334}

1.5.1. POLIMORFISMOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO.

1.5.1.1. SNP ATG16L1 rs2241880.

Polimorfismo del gen ATG16L1 situado en posición 233274722 del cromosoma 2, consiste en una transición de adenina por guanina en el primer nucleótido del codon 300 que provoca un cambio de un aminoácido de treonina por alanina (T300A).³³⁵

ATG16L1 pertenece a la familia de genes relacionados con la autofagia, que a su vez es un paso fundamental en la localización y destrucción de derivados proteicos patógenos de la respuesta inmune innata.³³⁶ Existe cada vez más evidencia que relaciona la autofagia con la inmunidad innata y adaptativa,^{336,337} lo que podría influir en la respuesta celular sobre ciertos patógenos invasores. ATG16L1 es esencial para la formación del autofagosoma.³³⁸

ATG16L1 codifica a una proteína que forma parte de un complejo proteico relacionado con AGT5 y AGT12.³³⁹ El reclutamiento ineficaz posterior de dichos genes como resultado de la variación de ATG16L1, se puede traducir en un deterioro generalizado en las funciones de la autofagia. En modelos de enfermedad de Crohn esta alteración no es indispensable para el reclutamiento de ATG5 y AGT12, aunque se ha demostrado una deficiencia clara en el manejo y resolución de infecciones bacterianas producidas por *E.coli* o especies de *salmonella*.^{340,341}

La proteína codificada por el gen ATG16L1 se relaciona con la codificada por el gen NOD2 (Nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 2). Esta proteína inicia el reclutamiento de AGT16L1 hacia la puerta de entrada bacteriana, sita en la membrana celular, en un proceso que requiere de la participación de ATG5 y ATG7. Por otra parte, esta proteína resulta necesaria para la presentación de antígenos de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad a la células T y contribuye a la activación de señales proinflamatorias. En modelos de enfermedad de Crohn se ha demostrado que ciertas mutaciones de los genes ATG16L1 y NOD2 se relacionan con fallos en la autofagia, en la presentación antigénica y en la defensa bacteriana.^{342,343}

Se sabe que los aminoácidos 296-299 de la proteína ATG16L1 son fundamentales para el funcionamiento de la caspasa y que el cambio de Thr/Ala en posición 300, incrementa la sensibilidad al proceso mediado por caspasa 3, lo que aumenta la degradación de dicha variante, con la consecuente disminución de la autofagia.

Todavía no se ha dilucidado totalmente el papel funcional de dicho polimorfismo, aunque se sabe que constituye un residuo altamente conservado que se encuentra localizado en el dominio WD de ATG16L1, lo que podría influir en la interacción de la proteína con otros componentes del autofagosoma. Es posible igualmente que dicho SNP favorezca cierto desequilibrio con otras variantes secuenciales en dicho locus, lo que podría tener efectos cuantitativos y cualitativos en la expresión de ATG16L1.

El polimorfismo rs2241880 del gen ATG16L1 corresponde con la mutación T300A.³⁴³ La prevalencia de este SNP es relativamente frecuente en la población general, habiéndose descrito hasta en el 51.3% de los casos en alguno de los grupos control de investigación.

Estudios de asociación han encontrado una relación en la expresión de dicho polimorfismo con la enfermedad de Crohn en diferentes poblaciones.³⁴³ Un estudio posterior, confirmó la asociación de dicho polimorfismo y de otro en el gen IL23R con esta enfermedad, descartándose la

asociación de ATG16L1 T300A con la celiaquía.³⁴⁴ Otros trabajos posteriores lo han relacionado así mismo con formas específicas de enfermedad de Crohn, como la afectación ileal predominante independientemente de otros factores conocidos como la edad al diagnóstico, la duración de la enfermedad, el tabaquismo o el hecho de presentar un polimorfismo específico en CARD15.³⁴² Un metaanálisis posterior ha confirmado la asociación de dicho polimorfismo no solo con la Enfermedad de Crohn sino también con la colitis ulcerosa.³⁴⁵

Finalmente dos estudios recientes fuera del ámbito de la enfermedad inflamatoria intestinal, han relacionado dicho polimorfismo con entidades de riesgo cardiovascular³⁴⁶ y con la enfermedad de Paget.³⁴⁷

1.5.1.2. SNP ATG2B rs3759601.

Polimorfismo del gen ATG2B situado en posición 9631131 del cromosoma 14, consiste en una transversión de citosina por guanina en el primer nucleótido del codon 1383 que provoca un cambio de glutamina por ácido glutámico (Q1383E).³⁴⁸

Los humanos presentan dos homólogos de genes de ATG2: ATG2A (KIAA0404) y ATG2B (FLJ10242). Se tratan de genes similares: 44,5% de los residuos de ATG2A son idénticos a ATG2B.³⁴⁹

Ambos genes resultan esenciales en la formación del autofagosoma, presumiblemente en un estadio tardío. ATG2A se expresa no solo a nivel de membrana autofágica sino también en los remanentes lipídicos, todo lo cual sugiere que ATG2A y ATG2B resultan esenciales en la formación del autofagosoma y de suma importancia para la regulación del tamaño y la distribución de los remanentes lipídicos.³⁴⁹

En los humanos se conocen 16 tipos de genes ATG, cuatro de los cuales (ATG2B, ATG5, ATG9B y ATG12) poseen repeticiones mononucleótidas de 7 o más nucleótidos. Se sabe que ciertas mutaciones genómicas por desplazamiento en la pauta de lectura con la repetición de mononucleótidos, son comunes en aquellos cánceres que cursan con inestabilidad de los microsatélites. Basado en esa evidencia, se desarrolló un estudio que demostró una elevada incidencia de cáncer gástrico y colorrectal (ambos poseen dichas características) asociado con ciertos polimorfismos en estos genes.³⁵⁰

Un estudio reciente ha demostrado que la presencia de SNPs en genes de autofagia ATG2B rs3759601 y ATG5 rs2245214 influyen en los efectos in vivo e in vitro de la vacuna BCG, bajo la estimulación de inductores bacterianos o fúngicos no relacionados. Ese mismo estudio encontró correlación entre el SNP de ATG2B rs3759601 y el riesgo de progresión y recurrencia de cáncer de vejiga tras la instilación intravesical de BCG.³⁵¹ Otro trabajo, intentó relacionar diferentes genes de autofagia, incluido ATG2B rs3759601, con el riesgo de desarrollo de tuberculosis y la respuesta al tratamiento, no encontrando una relación asociativa significativa entre este polimorfismo y la misma, a diferencia de ciertos SNPs a nivel de LAMP1 y mTOR.³⁵²

En otro estudio reciente de este polimorfismo no ha encontrado asociación con el riesgo de desarrollar enfermedad de Paget.³⁴⁷

La autofagia es un inhibidor de la tumorigénesis. Aparte del gen BECN1, que se ha detectado mutado en múltiples cánceres, se han encontrado otras deleciones o mutaciones genéticas en genes de la autofagia como UVARG, ATG2B, ATG5, ATG9B y ATG12 en múltiples tipos de

cáncer.^{350,353} No está claro como los defectos de la autofagia podría contribuir al inicio tumoral: el fallo de la autofagia favorece la acumulación de productos finales metabólicos nocivos que pueden inducir oxidación molecular y daño sobre las organelas, lo que podría favorecer daño del DNA cromosómico y desarrollar inestabilidad genómica. Por otra parte, el fallo de la autofagia podría desregular el proceso de proliferación celular o estimular las células muertas, con la consecuente liberación de contenido celular fuera de la propia célula, lo que estimularía la respuesta inflamatoria y la promoción tumoral.³⁵⁴ En situaciones de gran estrés metabólico, los tumores dependen de la autofagia al objeto de proporcionar nutrientes, asegurando así la supervivencia.³⁵⁵ En ciertos tipos de cáncer con defectos en la apoptosis, la autofagia resulta un importante mecanismo de supervivencia para mantener la viabilidad celular, a través de procesos metabólicos de gran estrés como la privación de glucosa o la hipoxia.^{247,356}

1.5.1.3. SNP ATG 5 rs2245214.

Polimorfismo del gen ATG5 situado en posición 10621866 dentro del cromosoma 6, consiste en una transversión de citosina por guanina que da lugar a un polimorfismo intrónico.³⁵⁷

El complejo ATG5-ATG16L1-ATG12 determina los sitios de síntesis del autofagosoma, regulando la unión de LC3 con ATG5-ATG12.^{358,359}

Se ha observado que ratones que presentan enfermedad de Paget presentan un incremento de la expresión de ATG5, que pudiera indicar un decremento de la autofagia en el curso de la enfermedad.³⁶⁰ Estudios en enfermos con cáncer de próstata y de tiroides, han demostrado igualmente, un incremento de la expresión de ATG5 en ese tejido en el caso del carcinoma de próstata y una asociación con el SNP en el carcinoma de tiroides.^{361,362}

La sobreexpresión de ATG5 en ratones potencia la autofagia, asociándose a patrones de envejecimiento saludable y a incremento de la esperanza de vida. Más aún, el cultivo de fibroblastos embrionarios de ratones transgénicos con sobreexpresión de ATG5 reveló un incremento de la tolerancia al estrés oxidativo y de la muerte celular inducida por el mismo.³⁶³ Estudios en humanos han demostrado una asociación entre ser portador del alelo G de este SNP de ATG5 y un incremento de riesgo para desarrollar enfermedad ósea de Paget.³⁴⁷

Otros estudios en enfermos con tuberculosis³⁵² y lupus eritematoso sistémico,³⁶⁴ no han encontrado una significación relevante de dicho polimorfismo con estas enfermedades. Sin embargo el genotipo CC del SNP rs548234, aumenta la susceptibilidad a padecer neuromielitis óptica, mientras que el alelo T del SNP rs548234 y el alelo A de rs6937876, son protectores para el desarrollo de dicha enfermedad.³⁶⁵

1.5.1.4. SNP ATG 10 rs1864183.

Polimorfismo del gen ATG10 situado en posición 82253397 del cromosoma 5, consiste en una transición de citosina por timina en el segundo nucleótido del codon 212 que provoca un cambio de treonina por metionina (T212M)³⁶⁶.

El número de estudios realizados en el ámbito de ATG10 es menor que en otros genes de autofagia, aunque se comienzan a desarrollar estudios relacionados con diferentes entidades nosológicas, en especial con el riesgo de padecer cáncer. Ciertas mutaciones en los sitios puente de ATG7 y ATG10, previenen la formación del conjugado ATG12-ATG5.³⁶⁷

A diferencia de la proteína ATG6 cuya expresión disminuye en enfermos con cáncer, la expresión de ATG10 aumenta en enfermos con cáncer colorrectal, principalmente en aquellos tumores avanzados, que presentaban invasión linfovascular y afectación metastásica a distancia.³⁶⁸ La región cromosómica del gen ATG10 (5q14), se encuentra deletionada frecuentemente en situaciones de cáncer de ovario, mama o gástrico^{369,370} y amplificada en neurofibrosarcoma y el cáncer de páncreas.^{371,372}

Un estudio en población china demostró que la presencia de algunos SNPs del gen ATG10 rs1864182 y rs10514231, protegían frente al desarrollo de cáncer de mama.³⁷³

Por otra parte, el polimorfismo rs1864183 del gen ATG 10 se ha asociado con la producción de IL8 en relación con infección tuberculosa.³⁵²

Así mismo, un trabajo ha sugerido que la presencia del alelo T del SNP del gen ATG 10 rs1864183 actúa como un factor protector para el desarrollo de enfermedad ósea de Paget.³⁴⁷

1.5.1.5. SNP XRCC1 rs1799782.

Polimorfismo de XRCC1 localizado en posición 43553422 del cromosoma 19, consiste en una transición de citosina por timina en el primer nucleótido del codon 194 lo que provoca un cambio de arginina por tripsina (Arg194Trp)³⁷⁴.

El gen XRCC1 (X-ray repair cross complementation group 1) es un gen localizado en el cromosoma 19 (19q13.2-13.3), que codifica un proteína de 663 aminoácidos, sin evidencia de actividad enzimática hasta la fecha, pero que posee varios dominios que interactúan con otras proteínas, junto con un señal de localización nuclear y un lugar de fosforilación para Ck2130.

Se trata de un gen que interviene en el sistema de reparación DNA por escisión de bases (BER). En situaciones de daño del DNA, la proteína que codifica este gen es reclutada por las glicosilasas, coordinando posteriormente la reparación por escisión de bases y modulando la actividad de otros factores implicados como APE1, POI β , PARP1 y LIG3. Se sabe que el factor de transcripción E2F1 regula su actividad.³⁷⁵

Estudios básicos sobre modelos animales, han demostrado que, por una parte, la pérdida de este gen es incompatible con la vida³⁷⁶ y, por otro, que la presencia de ciertas mutaciones inactivantes se asocian a una mayor sensibilidad y toxicidad de las radiaciones ionizantes y de los agentes alquilantes.³⁷⁷

Hasta el momento se han descrito hasta 60 SPNs en dicho gen, existiendo numerosos estudios con dicho polimorfismo que lo han asociado a diferentes enfermedades.

Un estudio realizado sobre población coreana con cáncer de piel (carcinoma basocelular y epidermoide) encontró un menor riesgo en aquellos enfermos portadores del alelo C del SNP XRCC1 rs 1799782, al contrario que para el SNP (Arg399Gln) del mismo gen, en el que la presencia del genotipo Arg/Arg se asocio a un incremento de riesgo para dichos tumores.³⁷⁸ Otro trabajo demostró un efecto protector de dicho SNP en cáncer de pulmón.³⁷⁹ Un metaanálisis ha relacionado el alelo T del SNP Arg194Trp de XRCC1 con el incremento de cáncer de cavidad oral en una población asiática, a diferencia de otros SNPs del mismo gen, en los que no se evidenció dicha asociación.³⁸⁰ Finalmente, otros trabajos han sido incapaces de relacionar dicho polimorfismo con el cáncer gástrico³⁸¹, el cáncer colorectal³⁸² o el cáncer de vejiga.³⁸³

Por otra parte, un estudio ha relacionado la presencia del SNP rs 1799782 del gen XRCC1 con el riesgo de desarrollar infección por el virus de la hepatitis A en población mejicano-americana.³⁸⁴ Otro estudio en población con enfermedad de Alzheimer no ha encontrado una asociación con el polimorfismo rs 1799782 del gen XRCC1, pero si con el polimorfismo rs25487.³⁸⁵ Otro trabajo no encontró una relación de SNP del gen XRCC1 rs1799782 con el riesgo de desarrollar esclerosis lateral amiotrófica esporádica, asociándose dicha entidad con otro SNP en el mismo gen (Arg399Gln).³⁸⁶ Idéntico resultado al previo se obtuvo en un estudio asociativo realizado en población Han con Lupus eritematoso sistémico.³⁸⁷

1.5.1.6. SNP XPD/ERCC2 rs13181.

El polimorfismo del gen XPD/ERCC2 (xeroderma pigmentosum complementation group D/ (excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 2) localizado en posición 45321661 del cromosoma 19.³⁸⁸

El gen ERCC2 localizado a nivel 19q13.3, codifica la proteína ERCC2/XPD que constituye uno de los nueve grupos que forman parte del proceso de reparación por escisión de nucleótidos (NER), una de las vías reparativas de lesiones del DNA que se encarga principalmente de la eliminación de productos dañados por la radiación ultravioleta, por productos químicos de diferente índole y otros productos relacionados con el daño oxidativo, mediante la acción de 20 proteínas y numerosos complejos multiproteicos.^{389,390}

El polimorfismo rs13181 consiste en una transversión de adenina por citosina en el primer nucleótido del codón 751 que provoca un cambio de lisina por glicina (Lys/751/Gln)³⁸⁸. Los enfermos homocigóticos muestran una deficiente reparación de lesiones relacionadas con la exposición al benzopireno o la radiación ultravioleta.^{391,392}

Como con casi todos los genes reparadores del DNA, se han realizado múltiples estudios en relación con este SNP:

Un metanálisis realizado en enfermos con melanoma, encontró una asociación del alelo C de este polimorfismo con el desarrollo de dicha dolencia.³⁹³ También se ha relacionado con el cáncer epidermoide de cabeza y cuello y el de mama en una población india,³⁹⁴ con el cáncer de vejiga³⁹⁵ o con el glioblastoma multiforme.³⁹⁶ No obstante otros estudios no han encontrado asociación de dicho SNP con cáncer de próstata,³⁹⁷ osteosarcoma³⁹⁸ o cáncer de pulmón.³⁹⁹

Por otra parte, un trabajo realizado en población pakistaní con glaucoma, asoció la presencia del genotipo heterocigótico AC/GA con el incremento de riesgo de sufrir dicha enfermedad en los varones incluidos en el estudio.⁴⁰⁰ Finalmente, otro estudio no encontró una asociación significativa con el riesgo de lupus eritematoso sistémico.⁴⁰¹

1.5.1.7. SNP TP53 rs1042522.

P53 es un gen supresor de tumores localizado en el cromosoma 17p13 y uno de los principales reguladores de la integridad del genoma, del ciclo celular y de los mecanismos de apoptosis.

Este gen codifica la proteína p53, que está formada por 393 aminoácidos y tiene un peso molecular de 53 KDa.⁴⁰² En condiciones normales, la principal función de la proteína p53 es la regulación de la proliferación y de la diferenciación celular. Para ello, se une a secuencias específicas del DNA y estimula la expresión de genes del ciclo celular que inhiben el crecimiento. Entre los genes inducibles por la proteína p53 destacan MDM2, WAF1/p21 y GADD45.^{403,404} Otras funciones de esta proteína son la síntesis y reparación del DNA, la plasticidad genómica y el control de la apoptosis.^{405,406}

El SNP del gen TP53 rs1042522 es uno de los 25 polimorfismos de p53, localizado en la posición 7676154 del cromosoma 17⁴⁰⁷. Consiste en una transversión de citosina por guanina en el segundo nucleótido del codón 72, que da lugar a una modificación en la secuencia primaria de la proteína permitiendo la traducción de dos variantes, una con el aminoácido prolina en el residuo 72 y la otra con el aminoácido de arginina en la misma posición.⁴⁰⁸ Este cambio está localizado en una región rica en prolinas implicadas en la respuesta apoptótica, y en la inhibición de la carcinogénesis,⁴⁰⁹ siendo la variante de prolina la más frecuente en la población.⁴¹⁰ La presencia de arginina en el codon 72, induce cinco veces más la apoptosis que la variante con prolina.⁴¹¹ El genotipo Arg/p53 resulta más oncogénico que Pro/p53, en este sentido varios estudios han evidenciado que aquellos enfermos con este segundo fenotipo presentan un crecimiento tumoral más lento y un tamaño menor al diagnóstico.^{412,413}

Existen numerosos estudios que han abordado la relación de este polimorfismo con diferentes enfermedades oncológicas, como el cáncer de pulmón,⁴¹⁴ o amplios metaánalisis que lo han relacionado hepatocarcinoma⁴¹⁵ o con la respuesta a diferentes líneas de quimioterapia en cáncer microcítico de pulmón,⁴¹⁶ o en cáncer gástrico.⁴¹⁷ Otros amplios estudios no encontraron asociación entre este polimorfismo y el cáncer de cuello uterino⁴¹⁸ o colorectal.⁴¹⁹

En el ámbito de la longevidad, al menos dos estudios con resultados dispares han intentado relacionar este polimorfismo con la misma:

- Un estudio demostró que los homocigóticos para el genotipo CC presentaban un incremento de la longevidad de unos 3 años.⁴²⁰
- Otro trabajo realizado sobre población italiana, no encontró un incremento de dicho polimorfismo en la población de mayor edad, de hecho, en la mujeres más añosas se encontró una reducción paradójica de Pro72/p53.⁴²¹

Otros trabajos, han relacionado ciertos alelos de este SNP con el incremento de riesgo de enfermedades tan diversas como la diabetes tipo 2 (asociada al alelo G),⁴²² la enfermedad coronaria⁴²³, la endometriosis (genotipo G/C),⁴²⁴ o la vitreoretinopatía (presencia del alelo Pro).⁴²⁵

Hipótesis de trabajo y
Objetivos

2. HIPÓTESIS DE TRABAJO.

Los cambios epidemiológicos en los países occidentales, con un envejecimiento poblacional significativo en los últimos años, que se hará más evidente si cabe en los años venideros, tienen y tendrán una relevancia considerable en los cuidados de salud.

Es esperable un aumento progresivo de los requerimientos sanitarios, del gasto médico y farmacéutico, así como de los recursos sociales para dar respuesta al desafío que supone dicho envejecimiento poblacional.

La Medicina Interna como especialidad troncal que aboga por un cuidado global del enfermo es una de las especialidades médicas que más se ven y se verán afectadas por dicha situación.

Estos enfermos, por definición complejos, requieren una atención específica. El conocimiento pormenorizado de las peculiaridades de esta población, ayudará a mejorar la atención y los cuidados, elevando la calidad asistencial y optimizando los recursos.

El envejecimiento poblacional depende de varias circunstancias. Los factores ambientales y el estilo de vida tienen un peso relevante en el mismo, de hecho, gran parte del incremento de la longevidad sobrevenido en los últimos años se debe a la mejoría y control de dichos factores.

El papel de la genética sobre la longevidad tiene un peso nada desdeñable. Múltiples genes y diferentes vías metabólicas se han relacionado con los procesos de envejecimiento celular y con el envejecimiento humano, no solo asociándose a la longevidad, sino a diferentes patrones y calidad de envejecimiento.

En este contexto planteamos, por un lado, que la mejora en el conocimiento de dicha realidad podría resultar de suma importancia para optimizar el abordaje de cada uno de los factores implicados en los diferentes fenotipos de envejecimiento.

Por otra parte, creemos "a priori" que es posible encontrar asociaciones entre ciertos polimorfismos implicados en vías metabólicas relacionadas con el envejecimiento, como son la autofagia y la reparación del DNA, con formas específicas de envejecimiento y con la presencia de patologías determinadas dentro de la población anciana.

3. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.

3.1. OBJETIVO GENERAL.

Estudiar la asociación de polimorfismos en genes de la autofagia (ATG16L1, ATG2B, ATG5 y ATG 10) y reparadores del DNA (XRCC1, XPD/ERCC2 y p53) con el envejecimiento y con distintos fenotipos asociados al mismo.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1. Caracterizar a los enfermos mayores de 65 años ingresados en nuestro servicio, en base a una serie de características epidemiológicas, clínicas y de laboratorio.
2. Analizar la distribución de polimorfismos en genes de la autofagia (ATG16L1, ATG2B, ATG5 y ATG 10) y reparadores del DNA (XRCC1, XPD/ERCC2 y p53) en una población anciana, estratificada según:
 - a. su historia personal y familiar: edad, sexo, estado civil, nivel de estudios, nivel socioeconómico, lugar de nacimiento, lugar de residencia, antecedentes de tabaquismo y alcoholismo, edad de fallecimiento de los padres, modalidad de residencia, historia de hospitalización y caídas recientes,
 - b. la presencia de comorbilidades: limitación auditiva, limitación visual, úlceras de presión, HTA, obesidad, enfermedad de Parkinson, catarata, degeneración macular asociada a la edad, depresión, psicosis, osteoporosis, así como otras comorbilidades recogidas en el índice de Charlson,
 - c. niveles de discapacidad, utilizando el índice de Katz que valora actividades básicas de la vida diaria y el índice de Lawton-Brody que calibra AIVD,
 - d. el nivel cognitivo de los enfermos, valorado mediante el cuestionario de Pfeiffer,
 - e. su estado nutricional, calibrado a través del MNA,
 - f. la presencia de fragilidad o robustez, a través el fenotipo de fragilidad de Fried,
 - g. percepción subjetiva de envejecimiento, y
 - h. calidad de vida autopercebida mediante el test SF-12.
3. Comparar la distribución de polimorfismos en genes de la autofagia (ATG16L1, ATG2B, ATG5 y ATG 10) y reparadores del DNA (XRCC1, XPD/ERCC2 y p53) en una población anciana frente a una población joven.

Material y Métodos

4. MATERIAL Y MÉTODOS.

4.1. PACIENTES.

Se estudiaron 303 pacientes ingresados de manera sucesiva en el Servicio de Medicina Interna- Los Montalvos, del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.

El único criterio de inclusión fue la edad: mayores de 65 años y consentir participar en el estudio.

Todos los pacientes participaron voluntariamente, tras haber firmado consentimiento informado, siguiendo las normas legales para Estudios Clínicos en España y las del Comité de Ética del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca. En los enfermos incapaces el consentimiento fue otorgado por parte del familiar directo o tutor.

El comité ético de investigación clínica autorizó el inicio del estudio el día 16 de Julio de 2013 (en el anexo se recoge dicha autorización).

4.2. VARIABLES RECOGIDAS EN EL ESTUDIO.

Durante el ingreso hospitalario se realizó una entrevista clínica, exploración física y pruebas complementarias. Así recogimos datos epidemiológicos, clínicos, analíticos y terapéuticos, representados por la siguientes variables:

Datos de filiación y epidemiológicos: edad, sexo, estado civil, estudios cursados, nivel de ingresos, lugar de nacimiento, lugar de residencia (distribuido por comarcas concretas de nuestra provincia), antecedentes de tabaquismo y en su caso, cuantificación de la carga tabáquica, ingesta de alcohol y en su caso, cuantificación de las unidades Básicas de Etanol (UBE), edad de fallecimiento de los padres, convivencia (solo, en familia o institucionalizado).

Variables clínicas: hospitalizaciones previas en el último año, caídas en el último año, polifarmacia (número de medicamentos que tomaban crónicamente), limitaciones sensoriales (disminución de la agudeza visual no subsanable con gafas, sordera no subsanable con prótesis auditiva), úlceras de presión, presencia de comorbilidades; HTA, obesidad, enfermedad de Parkinson, catarata, degeneración macular asociada a la edad, insuficiencia renal crónica con cuantificación del aclaramiento de creatinina, depresión, psicosis, artrosis y osteoporosis). *Estas últimas variables al objeto de complementar las ya recogidas en la escala de Charlson.*

Datos exploratorios: frecuencia cardíaca en reposo, TA en reposo, mediciones antropométricas recogidas en el MNA (IMC, circunferencia del brazo, circunferencia de la pantorrilla), en caso de limitación para el ortostatismo se realizó calculo de la altura mediante el cálculo de la envergadura siguiendo la ecuación de Chumlea y col.,⁴²⁶ cuantificación de la fuerza muscular (*hand grip strength test*) e investigación de criterios de fragilidad definidos mediante el fenotipo descrito por Fried.¹²

Escalas: escalas de comorbilidad que pronostican la supervivencia a 10 años (Charlson), escalas de discapacidad para actividades básicas de la vida diaria (Katz),¹¹¹ para actividades intermediarias/instrumentales de la vida diaria (Lawton-Brody),¹¹² estado cognitivo (Cuestionario corto del estado mental de Pfeiffer),⁴²⁷ situación anímica subjetiva estratificada como buena,

mala o regular, cuantificación de estado nutricional (Mini Nutricional Assesment),¹¹⁹ escala de calidad de vida (SF-12).⁴²⁸

Definimos *fenotipos de envejecimiento* para homogenizar la muestra, estableciéndose en concreto 4 *fenotipos clínicos* diferentes:

Envejecimiento saludable/activo: enfermos sin comorbilidades (Chalson 1), independencia (Katz 1), (Lawton 1), buen nivel cognitivo (Pfeiffer 1), con toma de menos de 3 medicamentos.

"Faliure to thrive": pérdida de peso, (4º punto de la valoración antropométrica-1 punto) o bien datos de desnutrición (Valoración nutricional global 3 puntos-Desnutrido), dependencia (Katz 3 puntos, Lawton 3 puntos), mal estado de ánimo/percepción subjetiva del estado de ánimo (1 punto), bajo nivel de colesterol (colesterol total <160), valorando así mismo el nivel cognitivo (enfermos con deterioro cognitivo o no según escala de Pfeiffer) y el número de comorbilidades posteriormente.

Fragilidad "sana" "verdaderos frágiles" o susceptibles de intervención: enfermos con criterios de fragilidad (1 punto de la puntuación de fragilidad), con buen nivel de dependencia (Katz 1 punto, Lawton 1 punto) y buen nivel cognitivo Pfeiffer 1 punto.

"Comórbidos sanos independientes y preservados cognitivamente": Charlson > 4, con Katz, Lawton y Pfeiffer de 1 punto.

Variables analíticas: glucosa, albúmina, colesterol total y subtipos (LDL-col y HDL-col), ferritina, vitamina B12 y folato.

Variables subjetiva "novedad del estudio": Percepción subjetiva de envejecimiento (Edad aparente/edad real).

Dichos datos fueron recogidos en un cuaderno de recogida de datos, identificados numéricamente de forma correlativa, al objeto de mantener la confidencialidad de los pacientes, por parte de 2 de los investigadores, con el fin de evitar sesgos en la determinación de alguna variable subjetiva como la edad aparente/edad cronológica.

Se recogieron los datos refiriéndose a la situación previa del enfermo, unas 4 semanas antes del ingreso, al objeto de evitar el sesgo relacionado con el ingreso actual. En situaciones de limitación neurológica grave parte de la recogida de datos se realizó con un familiar directo o tutor. Dicho deterioro neurológico limitó en algún enfermo recogida de datos relacionados con la escala de calidad de vida (SF-12) incluida en el estudio. En el anexo figura el cuaderno de recogida de datos utilizado.

4.3. MUESTRAS DE POBLACIÓN JOVEN

Con el objeto de comprobar posibles diferencias en la distribución de polimorfismos genéticos seleccionados entre nuestra cohorte de pacientes ancianos y una población más joven, se obtuvieron en el laboratorio 300 especímenes de individuos con edad inferior a los 65 años, recogidos inicialmente con otros propósitos.

4.4. ESTUDIO DE LABORATORIO.

En todos los enfermos se realizó una extracción de 10 cc de sangre periférica en tubo de EDTA, para posterior conservación a 4°C, y procesamiento para la extracción del DNA, al objeto de realizar el estudio genético.

La extracción se realizó aprovechando la analítica para la extracción de sistemáticos que realizamos habitualmente el primer día del ingreso en nuestro Servicio. Dicha extracción fue realizada por una de las enfermeras de la planta, conservándose posteriormente en una nevera del antiguo laboratorio del hospital, para su posterior traslado a la Unidad de Medicina Molecular del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina.

En la analítica realizada se determinaron una serie de variables bioquímicas: glucosa, albúmina, colesterol total, LDL-col, HDL-col, triglicéridos, vitamina B12 y folato. La analítica fue procesada con el resto de las analíticas del Servicio en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca.

Para la extracción del DNA en sangre periférica y posterior estudio de laboratorio, todas las muestras fueron identificadas con su correspondiente número de laboratorio para mantener la confidencialidad de los datos personales y genéticos, respetando en todo momento los principios éticos básicos de la investigación con muestras biológicas.

A partir de las células de sangre periférica se extrajo DNA genómico de alto peso molecular. En la sangre periférica, las células nucleadas se aislaron mediante centrifugación repetida y lisis eritrocitaria con solución hipotónica (centrifugación de la sangre total en 50 mL de ddH₂O durante 30 minutos, 1500 rpm, a 4°C). Tras la recuperación de la interfase creada y lisis de los glóbulos rojos con agua destilada, se lavaron las células mononucleadas en tampón Fornace (0.25 M Sacarosa; 50 mM Tris-HCl pH: 7.5; 25 mM KCl; 5 mM MgCl₂) el cual proporcionó la osmolaridad necesaria para no romper los leucocitos. Se precipitaron mediante centrifugación a 1500 rpm durante 10 minutos. El botón de células nucleadas de la sangre se resuspendió en tampón Fornace a una concentración estimada de 5x10⁶ células/mL, tras lo cual se añadió EDTA (ácido etilendiamino-tetraacético) 0.5 M pH 8 (concentración final 10 mM), un quelante de iones divalentes que posibilita la inactivación de las nucleasas; SDS (Sodium Dodecyl Sulfate, concentración final 1%) para romper las membranas celulares; y proteinasa K (Boehringer Mannheim, concentración final 50 µg/mL) para degradar las proteínas. La mezcla se incubó a 55°C durante 8-16 horas.

Tras la incubación, se procedió a la extracción y purificación del DNA tratándolo con una mezcla de fenol tamponado a pH 8 (para prevenir que el DNA fuera "atrapado" en la fase intermedia: entre la fase acuosa y la orgánica) y de CIAA (cloroformo:alcohol isoamílico 24:1).

Tras una centrifugación a 580 g durante 10 minutos a temperatura ambiente, se recuperó la fase acuosa sobrenadante conteniendo el DNA en solución, y se añadió un volumen igual de CIAA con el fin de retirar restos proteicos y fenol y, tras mezclarlos hasta su homogeneización, se sometió a una nueva centrifugación en condiciones idénticas, recuperando nuevamente la fase acuosa. Posteriormente, la fase acuosa se transfirió a tubos Corex® estériles y el DNA de ésta solución final se precipitó mediante la adición de 2.5 volúmenes de etanol absoluto frío (-20 °C). El DNA se transfirió a un eppendorf, se lavó con etanol al 70% con una breve centrifugación a 16,000 rpm, y se dejó evaporar el etanol residual, para resuspender finalmente el DNA en 100 µl de agua bidestilada (ddH₂O) estéril.

La concentración y el grado de contaminación proteica del DNA así obtenido se calculó tras medir su absorbancia a 260 y 280 nm respectivamente, en un espectrofotómetro automático de DNA/RNA (GeneQuant, Pharmacia) por medio de la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g de DNA/ml} = (\text{D.O.260}) \times (\text{factor de dilución}) \times (50)$$

Nota: 50 es un factor de corrección introducido ya que una unidad de densidad óptica con una luz incidente de 260 nm es el valor de absorbancia que tienen 50 μg de DNA/ml.

El cociente D.O.260/D.O.280 se utiliza para determinar el grado de contaminación proteica, considerando como valores adecuados un cociente entre 1.65 y 2.0. Valores inferiores a los señalados indican contaminación por proteínas o por solventes orgánicos, realizándose en estos casos una nueva purificación del DNA. Valores superiores parecen indicar un exceso de RNA, el cual se eliminó tratando la solución de DNA con RNAsa y purificando nuevamente.

La muestra de DNA con una concentración aproximada entre 1,000 y 1,500 $\mu\text{g/ml}$ se almacenó en tubos eppendorf a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, con el fin de evitar tanto la degradación progresiva del DNA como su posible contaminación por microorganismos.

4.4.1. ESTUDIO DE POLIMORFISMOS EN GENES DE LA AUTOFAGIA Y REPARADORES DEL DNA MEDIANTE AMPLIFICACIÓN CON SONDAS TaqMan®50

En el estudio de los polimorfismos de los genes de la autofagia y reparadores del DNA hemos realizado la discriminación alélica mediante PCR con sondas TaqMan®.

En la PCR con sondas TaqMan® los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de DNA sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de DNA formado.

Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación. Los termocicladores para llevar a cabo la PCR con sondas TaqMan® incorporan un lector de fluorescencia y están diseñados para poder medir, en cualquier momento, la fluorescencia emitida en cada uno de los viales donde se realice la amplificación. Los sistemas de detección por fluorescencia empleados en la PCR con sondas TaqMan® pueden ser de dos tipos: agentes intercalantes y sondas específicas marcadas con fluorocromos.

Para la discriminación alélica, hemos empleado sondas específicas marcadas con fluorocromos: Un donador en el extremo 5', que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor (*quencher*) o apantallador en el extremo 3', que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptora deben estar espacialmente próximas. Además, el espectro de emisión de la primera se ha de solapar con el espectro de absorción de la segunda. En todos nuestros ensayos de discriminación alélica mediante PCR con sondas TaqMan® los fluorocromos empleados fueron VIC y FAM (Figura 14).

Mientras la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor. Sin embargo, durante la amplificación del DNA diana, la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la DNA polimerasa, que tiene actividad 5' exonucleasa, hidroliza el extremo libre 5' de la sonda, produciéndose la liberación del fluorocromo donador. Como donador y aceptor están, en ese momento, espacialmente alejados, la fluorescencia emitida por el primero es captada por el lector.

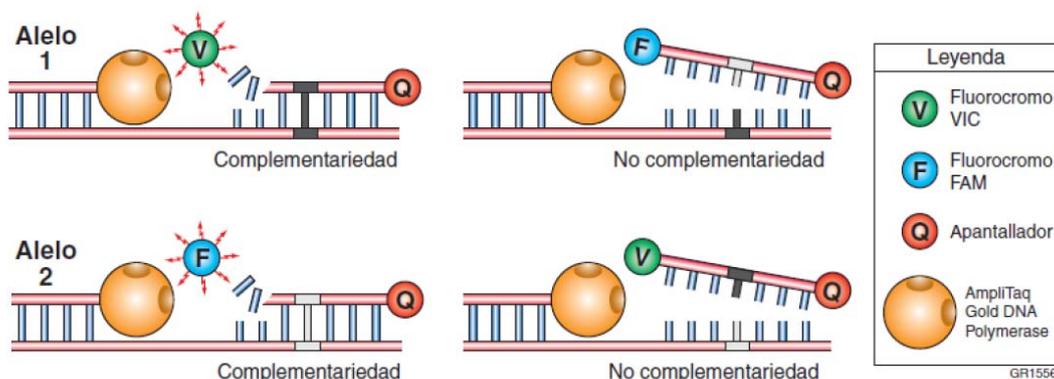


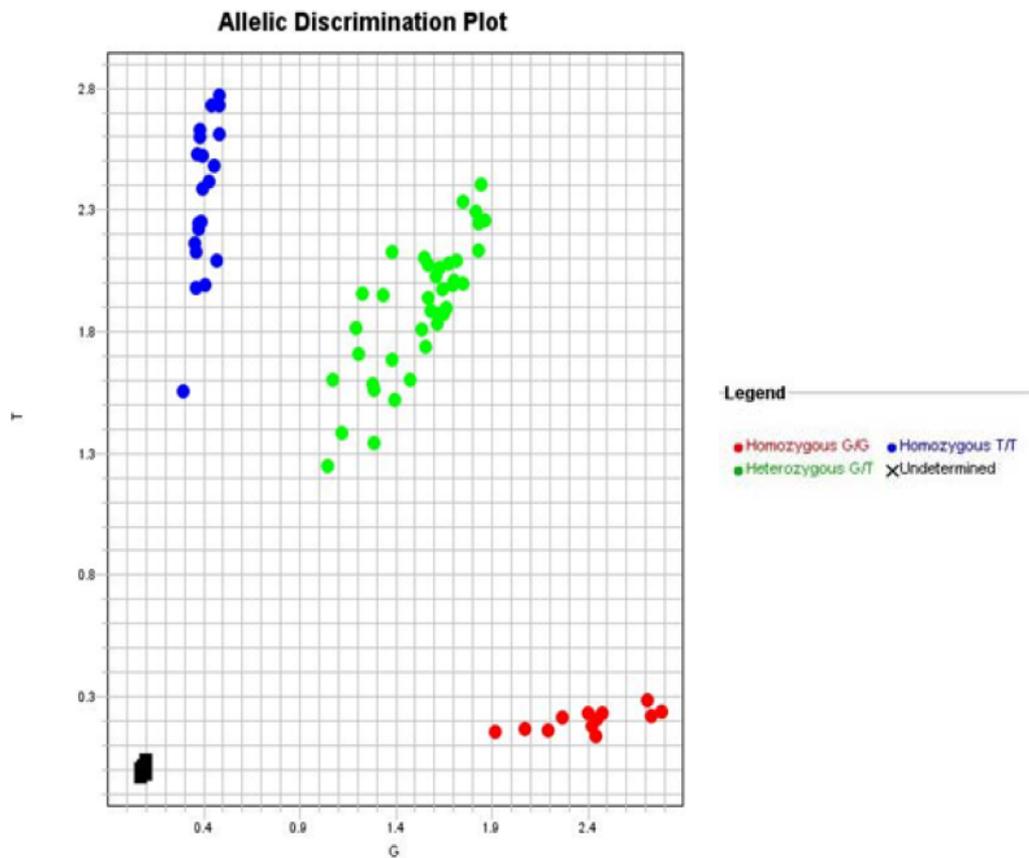
Figura 14: Mecanismo de discriminación alélica mediante sondas TaqMan® empleando fluorocromos VIC y FAM. Figura tomada de la Guía de reactivos de Applied Biosystems StepOne™ Real-Time PCR System.

El empleo de estas sondas garantiza la especificidad de la detección y permite identificar polimorfismos o mutaciones puntuales.

Si sólo se observa fluorescencia para el fluorocromo VIC implica una homocigosidad para el alelo 1; del mismo modo, si sólo se observa fluorescencia para el fluorocromo FAM implica una homocigosidad para el alelo 2; si ambas señales son fluorescentes significa que existe heterocigosidad.

Nuestro estudio se realizó en un termociclador de Applied Biosystems que dispone de varios canales de lectura y permite detectar la emisión de distintos fluorocromos a la vez. De esa manera, se pueden usar varias sondas marcadas con distintos fluorocromos, para identificar los diferentes alelos descritos en cada uno de los genes estudiados.

Las gráficas de puntos resultantes permiten la discriminación alélica en cada uno de los pacientes para el polimorfismo estudiado (Figura 15).



Cada nube de puntos representa a un genotipo: los dos tipos de homocigotos en los extremos y los heterocigotos en el centro. Los cuadrados negros se corresponden con los controles negativos.

Figura 15: Gráfico de discriminación alélica.

En la siguiente tabla se describe el volumen y los componentes de la reacción de PCR, las sondas utilizadas y el mecanismo de reparación implicado.

Tabla 3: Componentes de la reacción de PCR a tiempo real y las cantidades a añadir de cada uno de ellos.

Reactivos	Cantidades (10 ul)
Taq@Man Genotyping Master Mix	5 ul
Sonda+oligonucleótidos de Applied	0.25 ul
ddH ² O	4.25 ul
DNA	0.5 ul

En la Tabla 2 se muestran las regiones reconocidas por las sondas y la mutación analizada en cada uno de los genes incluidos en nuestro estudio.

Tabla 2: Denominación del gen, identificador y secuencia de contexto de cada SNP estudiados.

Gen	Identificador	Secuencia de contexto
ATG 2B	c_9690166_10	GCTGACTGTACCTTAGACCTTCTTT[C/G]AAAGGCTCCAGGCTTCATATCTGCC
ATG16L1	c_9095577_20	CCCAGTCCCCCAGGACAATGTGGAT[A/G]CTCATCTGGTTCTGGTAAAGAAGT
ATG 10	c_11953871_20	CTACCTCTGAGTTATGCCAAAGCAA[C/T]GTCTCAGGATGAACGAAATGTCCCT
ATG 5	c_3001905_20	ATTTTATATGAACCTATCAGTAGA[C/G]TAGCCAAAAAGAAGCTTCATATAA
XRCC1	c_11463404_10	TCACCTGGGGATGTCTTGTGATCC[A/G]GCTGAAGAAGAGAGCCCCGGCCTC
ERCC2	c__3145033_10	TGCTGAGCAATCTGCTCTATCCTCT[G/T]CAGCGTCTCCTCTGATTCTAGCTGC
TP53	c_2403545_10	AGGAGCTGCTGGTGCAGGGGCCACG[C/G]GGGGAGCAGCCTCTGGCATTCTGGG

En la tabla 3 se resumen las características de los polimorfismos incluidos en nuestro estudio.

Tabla 3: Denominación de SNP, aminoácido mutado, localización cromosómica, función y codón de cada uno de los SNPs estudiados.

Gen	rs	Aminoácido	Localización	Función	Codón
ATG 2B	3759601	Q1383E	Chr.14: 96777468	Missense Mutation	CAA,GAA
ATG 16L1	2241880	T300A	Chr.2: 234183368	Missense Mutation	ACT,GCT
ATG 10	1864183	T212M	Chr.5: 81549216	Missense Mutation	ACG,ATG
ATG 5	2245214	Intrónico	Chr.6: 106662741	Intron	
XRCC1	1799782	R194W	Chr.19: 44057574	Missense Mutation	CGG,TGG
ERCC2	13181	K751Q	Chr.19: 45854919	Missense Mutation	AAG,CAG
TP53	rs1042522	P72R	Chr.17: 7579472	Missense Mutation	CCC,CGC

4.5. ESTUDIO ESTADÍSTICO

La descripción de los datos en el caso de variables cuantitativas se ha realizado mediante media, desviación típica, mediana y rango intercuartílico, máximo y mínimo. En el caso de variables cualitativas mediante porcentajes. Para la visualización de las distribuciones de frecuencias se han utilizado los histogramas.

Se realizaron cruces entre los polimorfismos y las enfermedades (comorbilidades recogidas). Las comorbilidades son todas variables categóricas, excepto IRC que es cuantitativa.

Para las variables categóricas se aplicó el test χ^2 de tablas de contingencia y en el caso de IRC el análisis de la varianza.

Para el análisis de la asociación de los polimorfismos con las diferentes patologías definidas como ausencia-presencia, se ha utilizado el test chi-cuadrado para tablas de contingencia. El test exacto de Fisher se ha aplicado cuando las tablas de contingencia estaban poco representadas (frecuencias esperadas menores de 5).

Para la estimación de las odds-ratios en el modelo codominante y el análisis del efecto de las covariables género y edad se ha utilizado la regresión logística. Se han calculado los intervalos de confianza al 95% para las odds-ratio.

Se ha utilizado el Análisis de la Varianza (ANOVA) para analizar la relación entre los genotipos y las variables cuantitativas cuando las distribuciones eran normales y cumplían el supuesto de homocedasticidad. Si las distribuciones no son normales se ha utilizado el test Kruskal-Wallis.

El test de Bonferroni se ha utilizado para detectar entre qué grupos hay diferencias en el caso del Análisis de la varianza y la U de Mann-Whitney con la corrección de Bonferroni en el caso del test Kruskal-Wallis.

Se han declarado diferencias estadísticamente significativas cuando el p-valor era menor de 0,05.

Previo a la recogida de los datos correspondientes a la variable “percepción subjetiva del envejecimiento”, se realizó un estudio de concordancia mediante el índice kappa, entre los dos observadores que valoraron como “más joven”, “igual” o “más viejo” la diferencia entre la edad aparente y la real de un grupo de 20 pacientes.

Resultados

5. RESULTADOS.

Se incluyeron en total 303 enfermos, en 8 de los cuales no se obtuvo muestra de DNA en sangre periférica siendo finalmente analizados 295 pacientes.

Hubo alguna pérdida de información en la recogida de datos, relacionado con ciertos aspectos incluidos en la escala de calidad de vida de los enfermos SF-12, debido a la situación cognitiva del enfermo que impedía la cumplimentación.

5.1. ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.

5.1.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS.

En nuestro estudio, compuesto finalmente por 295 pacientes, encontramos un predominio femenino (53,2%), con un número similar de viudos (45,8%) y de casados (41,7%). Más del 80% habían cursado algún tipo de estudios, siendo la gran mayoría (95,3%) oriundos de nuestra provincia (Tabla 4).

Tabla 4: Variables epidemiológicas (sexo, estado civil, estudios y lugar de nacimiento).

Sexo					
		Frecuencia	Porcentaje	% válido	% acumulado
Válido	Varón	138	46,8	46,8	46,8
	Mujer	157	53,2	53,2	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Estado civil					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Casado	123	41,7	41,7	41,7
	Soltero	37	12,5	12,5	54,2
	Viudo	135	45,8	45,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Estudios					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Ninguno	52	17,6	17,6	17,6
	Primarios-Superiores	243	82,4	82,4	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Lugar de nacimiento					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Salamanca	281	95,3	95,3	95,3
	Fuera de Salamanca	14	4,7	4,7	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

La edad media de los enfermos incluidos en el estudio fue de $84,7 \pm 7,2$ años (Figura 16).

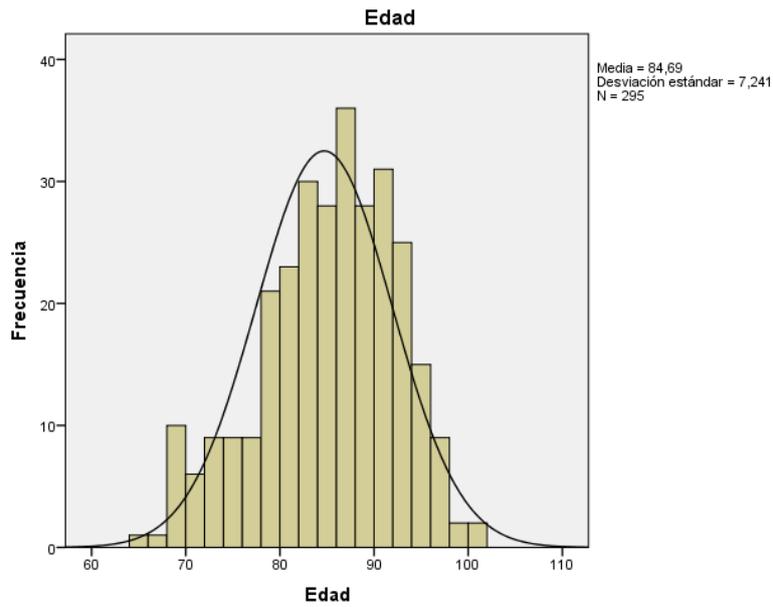


Figura 16: Edad de los enfermos incluidos en el estudio

La mayoría de los pacientes residían en Salamanca capital, 177 (60,0%) del total (Figura 17).

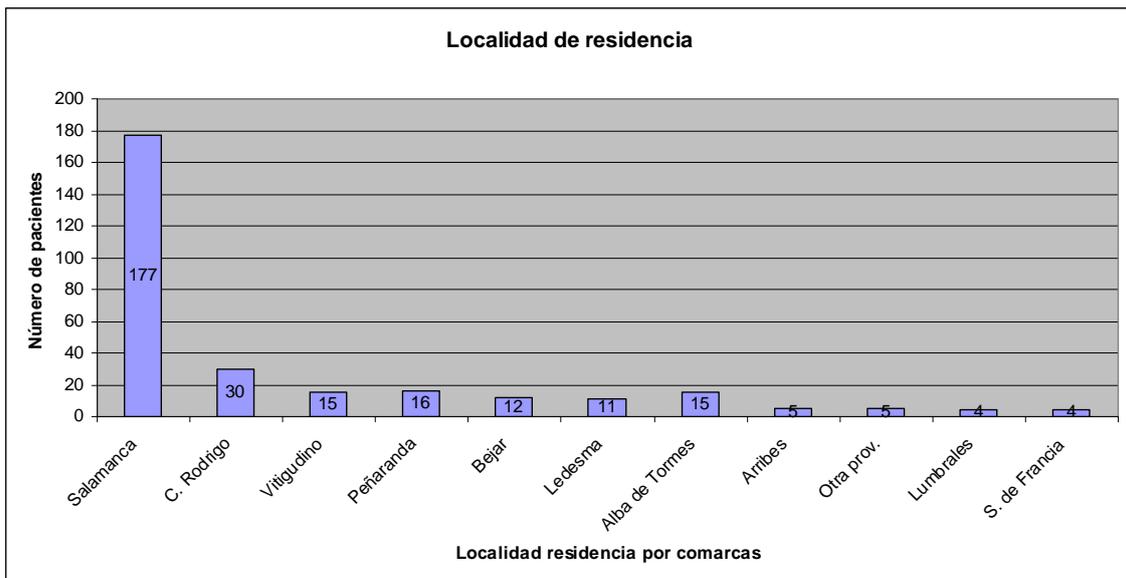


Figura 17: Localidad de residencia de los enfermos integrantes del estudio por comarcas.

La edad media del fallecimiento de los padres fue de $76,0 \pm 13,6$ años, mientras que las de las madres fue de $79,5 \pm 13,1$ años (Tabla 5).

Tabla 5: Edad de fallecimiento de los padres.

	Válidos	Perdidos	Media	Desviación típica	Mediana	Mínimo	Máximo
Edad de Fallecimiento del Padre	235	60	75,97	13,61	80,00	25,00	103,00
Edad de Fallecimiento de la Madre	239	56	79,46	13,08	84,00	29,00	98,00

Más del 15% de los pacientes admitían antecedentes de tabaquismo presente o pasado, en torno al 7% consumo regular de alcohol y algo más del 20% habían sufrido al menos una caída en el último año (Tabla 6).

Tabla 6: Historia de tabaquismo, alcoholismo y caídas en el último año.

Tabaquismo					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	50	16,9	16,9	16,9
	No	245	83,1	83,1	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Consumo regular de alcohol					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	21	7,1	7,1	7,1
	No	274	92,9	92,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Caídas en el último año					
		Frecuencia	%	% válido	%acumulado
Válido	Sí	63	21,4	21,4	21,4
	No	232	78,6	78,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

En los fumadores, la carga tabáquica media fue de $41,2 \pm 33,3$ UPA, 21 pacientes tenían antecedentes de ingesta de alcohol, con una ingesta media de $4,5 \pm 6,7$ UBE (Tabla 7).

Tabla 7: Historia de tabaquismo, alcoholismo y caídas en el último año.

	Si	No	Media	Desviación típica	Error Estándar	Mediana	Mínimo	Máximo
Carga tabáquica (UPA)	50	245	41,17	33,33	4,20	40,00	2,00	240,00
Unidades de alcohol (UBE)	21	274	4,45	6,76	1,51	2,00	1,00	32,00

El número medio de fármacos de los enfermos incluidos en la muestra fue de $7,5 \pm 3,4$ (Figura 18).

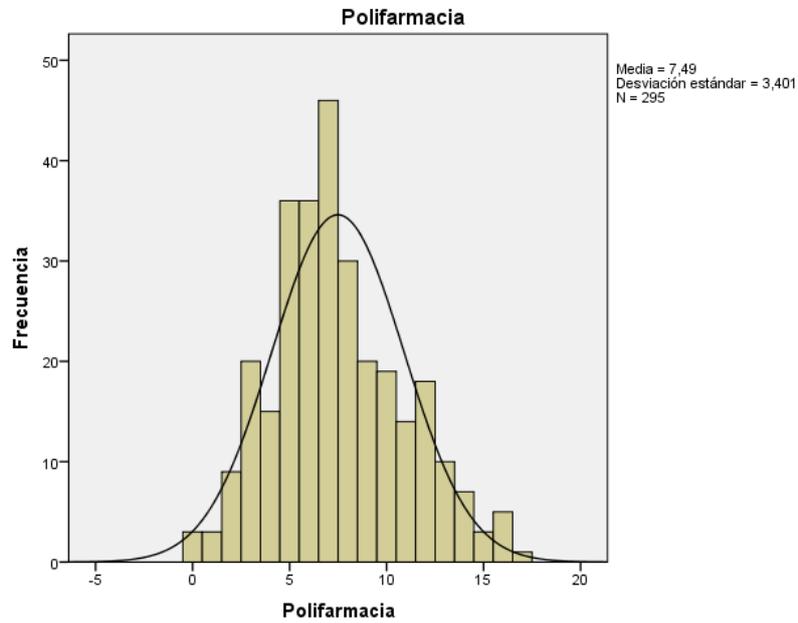


Figura 18: Número de fármacos que tomaban los enfermos incluidos en el estudio

La mayoría de los enfermos 196 (66,4%) residía con la familia, mientras que 21 lo equivale al 7,1% del total lo hacían solos (Figura 19).

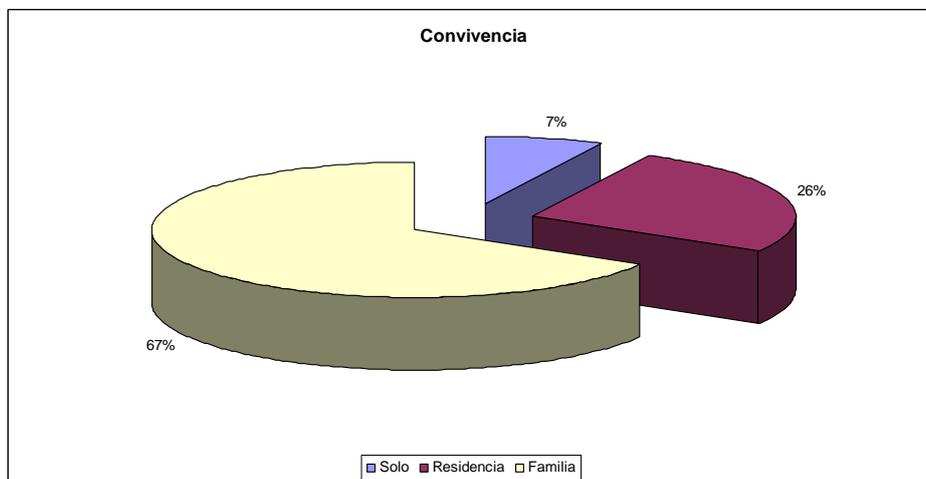


Figura 19: Modalidad de residencia de los enfermos incluidos en el estudio.

5.1.2. RESULTADOS DE LAS VARIABLES FÍSICAS Y DE LABORATORIO RECOGIDAS EN EL ESTUDIO.

Exponemos los resultados obtenidos en las diferentes variables físicas y de laboratorio recogidas en el estudio en la siguiente tabla.

Tabla 8: Variables físicas y de laboratorio (FC en reposo, TAS, TAD, CICr, Glucosa, LDL-col, HDL-col, ferritina, vitamina B12, folato y fuerza muscular).

	Válidos	Perdidos	Media	Desviación típica	Mediana	Mínimo	Máximo
Frecuencia cardiaca en reposo (lat/min)	295	0	83,56	18,13	81,00	40,00	170,00
Tensión arterial sistólica (mmHg)	295	0	130,02	23,68	128,00	78,00	220,00
Tensión arterial diastólica (mmHg)	295	0	71,00	12,02	70,00	30,00	101,00
Aclaramiento de creatinina (ml/min)	68	227	35,39	11,68	35,00	1,00	70,00
Glucosa (mg/dl)	295	0	124,21	57,91	106,00	6,10	365,00
LDL colesterol (mg/dl)	287	8	82,49	33,87	77,00	10,00	214,00
HDL colesterol (mg/dl)	287	8	43,44	16,32	42,00	5,00	101,00
Ferritina (ng/ml)	295	0	331,56	595,33	201,00	3,00	8596,00
Vitamina B12 (pg/ml)	291	4	624,15	431,99	496,00	42,00	3222,00
Ácido Fólico (ng/ml)	291	4	12,17	68,51	7,00	1,20	1173,00
Fuerza Muscular (Hand Grip Strength) (Kg)	247	48	12,79	7,46	12,00	0,00	33,70

Los valores medios de albúmina fueron de $3,4 \pm 0,5$ mg/dl (Figura 20).

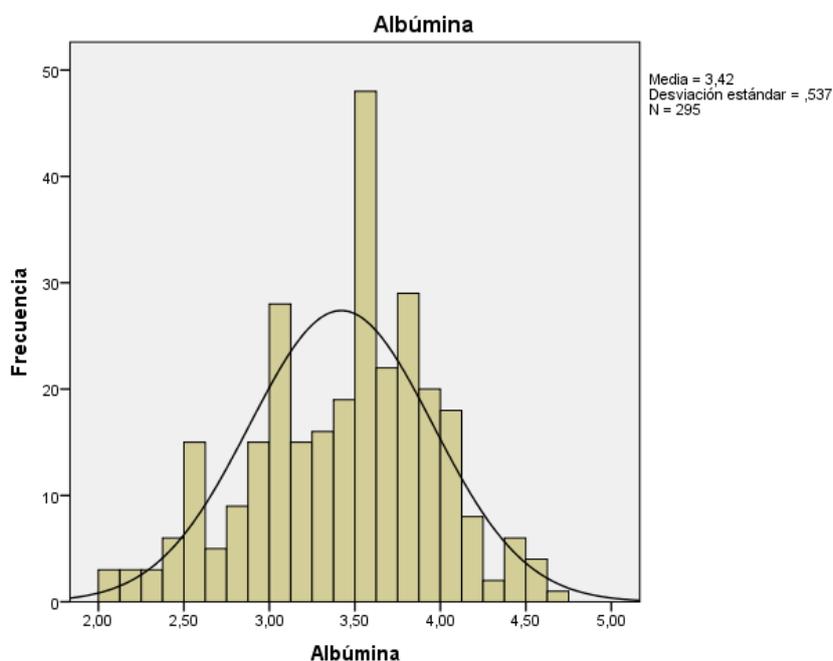


Figura 20: Valores de albúmina plasmática de los enfermos incluidos en el estudio.

Los niveles medios de colesterol total de $145,2 \pm 42,3$ mg/dl (Figura 21).

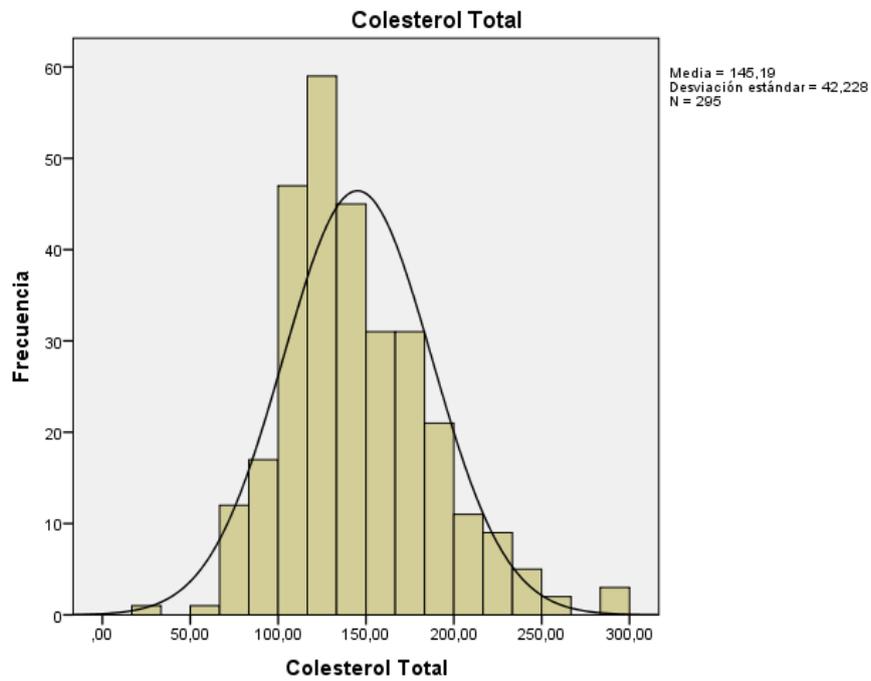


Figura 21: Valores de colesterol de los enfermos incluidos en el estudio.

5.1.3. COMORBILIDADES

Del total de los pacientes estudiados, más del 15% presentaban disminución de la agudeza visual no subsanable con gafas, algo más del 30% sordera no subsanable con prótesis auditiva, más del 17% catarata, mientras que solo 5 pacientes del total degeneración macular asociada a la edad (Tabla 9).

Tabla 9: Comorbilidades (disminución de la agudeza visual no subsanable con gafas, sordera no subsanable con prótesis auditiva, catarata y degeneración macular asociada a la edad).

Disminución de la agudeza visual no subsanable con gafas					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	51	17,3	17,3	17,3
	No	244	82,7	82,7	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Sordera no subsanable con prótesis auditiva					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	92	31,2	31,2	31,2
	No	203	68,8	68,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Catarata					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	51	17,3	17,3	17,3
	No	244	82,7	82,7	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Degeneración macular asociada a la edad					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	5	1,7	1,7	1,7
	No	290	98,3	98,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

El número de enfermos con Parkinson fue de 15 pacientes (5,1%) del total, 27 pacientes presentaban úlceras de presión al ingreso (Tabla 10)

Tabla 10: Comorbilidades (Enfermedad de Parkinson y úlceras por presión).

Enfermedad de Parkinson					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	15	5,1	5,1	5,1
	No	280	94,9	94,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Úlcera por presión					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	27	9,2	9,2	9,2
	No	268	90,8	90,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Así mismo, más del 70% eran hipertensos y más del 15% obesos. Definimos HTA como enfermos con cifras tensionales persistentemente superiores a 140/90 mmHg o toma de medicación antihipertensiva y obesidad como la presencia de un IMC > 30 Kg/m². Más del 20% presentaban insuficiencia renal crónica (Tabla 11).

Tabla 11: Comorbilidades (HTA, obesidad, catarata, e insuficiencia renal crónica).

HTA					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	207	70,2	70,2	70,2
	No	88	29,8	29,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Obesidad					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	48	16,3	16,3	16,3
	No	247	83,7	83,7	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Insuficiencia Renal Crónica					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	68	23,1	23,1	23,1
	No	227	76,9	76,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Prácticamente el 20% del total de enfermos incluidos en el estudio sufrían depresión, mientras que solo el 1% tenían antecedentes de psicosis (Tabla 12).

Tabla 12: Comorbilidades (depresión, psicosis).

Depresión					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	57	19,3	19,3	19,3
	No	238	80,7	80,7	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Psicosis					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	3	1,0	1,0	1,0
	No	292	99,0	99,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

El porcentaje de artrósicos ascendía hasta casi el 35%, mientras que algo más del 10% eran osteoporóticos (Tabla 13).

Tabla 14: Comorbilidades (Artrosis, osteoporosis).

Artrosis					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	103	34,9	34,9	34,9
	No	192	65,1	65,1	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Osteoporosis					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	32	10,8	10,8	10,8
	No	263	89,2	89,2	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Agrupamos numéricamente cada una de unas de las comorbilidades anteriormente recogidas, la distribución de las mismas queda reflejada en la siguiente tabla.

Tabla 14: Pluripatología/enfermedades presentes por enfermo desde el punto de vista numérico.

		Pluripatología			
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	0	4	1,4	1,4	1,4
	1	18	6,1	6,1	7,5
	2	46	15,6	15,6	23,1
	3	49	16,6	16,6	39,7
	4	58	19,7	19,7	59,3
	5	48	16,3	16,3	75,6
	6	30	10,2	10,2	85,8
	7	18	6,1	6,1	91,9
	8	12	4,1	4,1	95,9
	9	8	2,7	2,7	98,6
	10	3	1,0	1,0	99,7
	12	1	,3	,3	100,0
		Total	295	100,0	100,0

En la escala de Charlson, 23 pacientes (7.8%) obtuvieron 0 puntos, mientras que 83 (28.1%) más de 3 (Tabla 15).

Tabla 15: Escala pronóstica de Charlson.

		Escala de Charlson			
		Frecuencia	Porcentaje	% válido	% acumulado
Válido	0	23	7,8	7,8	7,8
	1	59	20,0	20,0	27,8
	2	81	27,5	27,5	55,3
	3	49	16,6	16,6	71,9
	>3	83	28,1	28,1	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
		Escala de Charlson			
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	<=3	212	71,9	71,9	71,9
	>3	83	28,1	28,1	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

A continuación se describe la puntuación obtenida en cada una de las comorbilidades recogidas por la escala de Charlson: Más del 40% tenían antecedentes de insuficiencia cardiaca, 18 pacientes enfermedad arterial periférica, casi el 20% enfermedad cerebrovascular (Tabla 16).

Cerca del 30% del total sufrían demencia, prácticamente el 35% enfermedad pulmonar obstructiva crónica mientras que solo el 3% enfermedad de tejido conectivo (Tabla 16).

Tabla 16: Comorbilidades incluidas en la escala de Charlson (1).

Insuficiencia cardiaca					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	125	42,4	42,4	42,4
	No	170	57,6	57,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Enfermedad arterial periférica					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	18	6,1	6,1	6,1
	No	277	93,9	93,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Enfermedad Cerebrovascular					
		Frecuencia	%	% válido	%acumulado
Válido	Sí	58	19,7	19,7	19,7
	No	237	80,3	80,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Demencia					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	86	29,2	29,2	29,2
	No	209	70,8	70,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
EPOC					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	101	34,2	34,2	34,2
	No	194	65,8	65,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Enfermedad del tejido conectivo					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	9	3,1	3,1	3,1
	No	286	96,9	96,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Casi el 5% tenían antecedentes de úlcera gastroduodenal, 3 pacientes (1%) hepatopatía crónica leve (que no cursaba con HT portal) (Tabla 17).

Más del 25% eran diabéticos, solo 10 pacientes presentaban secuelas neurológicas en forma de hemiplejía, mientras que 25 presentaban insuficiencia renal significativa con unos valores de creatinina plasmáticas superiores a 3 mg/dl (Tabla 17).

Tabla 17: Comorbilidades incluidas en la escala de Charlson (2).

Úlcera gastroduodenal					
		Frecuencia	%	%válido	% acumulado
Válido	Sí	14	4,7	4,7	4,7
	No	281	95,3	95,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Hepatopatía crónica leve					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	3	1,0	1,0	1,0
	No	292	99,0	99,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Diabetes mellitus sin lesión de órgano diana					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	74	25,1	25,1	25,1
	No	221	74,9	74,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Hemiplejía					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	10	3,4	3,4	3,4
	No	285	96,6	96,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Insuficiencia renal crónica con valores de Cr > 3 mg/dl					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	25	8,5	8,5	8,5
	No	270	91,5	91,5	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Diabetes mellitus con lesión de órganos diana					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	29	9,8	9,8	9,8
	No	266	90,2	90,2	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Finalmente, 33 pacientes (11,2%) tenían antecedentes de neoplasia sólida, 5 pacientes leucemia, en la que se incluyen por definición, la LMC (Leucemia mieloide crónica), LLC (Leucemia linfática crónica), Policitemia vera (PV), otras leucemias crónica y todas las agudas.

Solo el 1% antecedentes de linfoma, 4 (1,4%) hepatopatía crónica moderada o grave, 6 (2%) neoplasia sólida con afectación metastásica y un único paciente criterios de SIDA (Tabla 18).

Tabla 18: Comorbilidades incluidas en la escala de Charlson (3).

Tumor o neoplasia sólida					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	33	11,2	11,2	11,2
	No	262	88,8	88,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Leucemia					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	5	1,7	1,7	1,7
	No	290	98,3	98,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Linfoma					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	3	1,0	1,0	1,0
	No	292	99,0	99,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Hepatopatía crónica moderada/severa					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	4	1,4	1,4	1,4
	No	291	98,6	98,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Tumor o neoplasia sólida con metástasis					
		Frecuencia	%	% válido	%acumulado
Válido	Sí	6	2,0	2,0	2,0
	No	289	98,0	98,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
SIDA definido					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	1	,3	,3	,3
	No	294	99,7	99,7	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

5.1.4. ESCALAS FUNCIONALES, COGNITIVAS Y ANÍMICAS.

Clasificación obtenida por los enfermos según la escala de Katz que valora actividades básicas de la vida diaria: 113 pacientes (38,3%) no presentaban limitación para ninguna actividad de la vida diaria, 30 pacientes (10,2%) eran independientes para todas las actividades menos 1, mientras que 84 pacientes (28,5%) lo eran para todas (Figura 22).

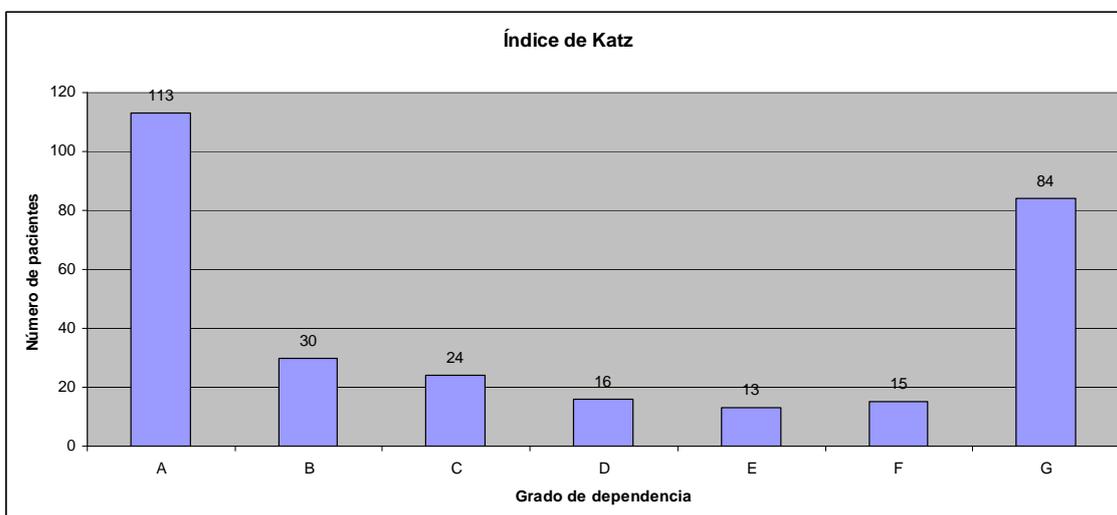


Figura 22: Índice Katz que calibra actividades básicas de la vida diaria.

En la clasificación de Lawton-Brody: Solo 65 pacientes (22%) fueron considerados como independientes (Tabla 19).

Tabla 19: Escala de Lawton-Brody que calibra AIVD.

		Índice de Lawton y Brody			
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	menos de 8 puntos (Independiente)	65	22,0	22,0	22,0
	8-20 puntos (necesita ayuda)	56	19,0	19,0	41,0
	más de 20 puntos (necesita mucha ayuda)	174	59,0	59,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

De los enfermos analizados, algo más del 55% no presentaban deterioro cognitivo según el cuestionario corto del estado mental de Pfeiffer (Figura 23).

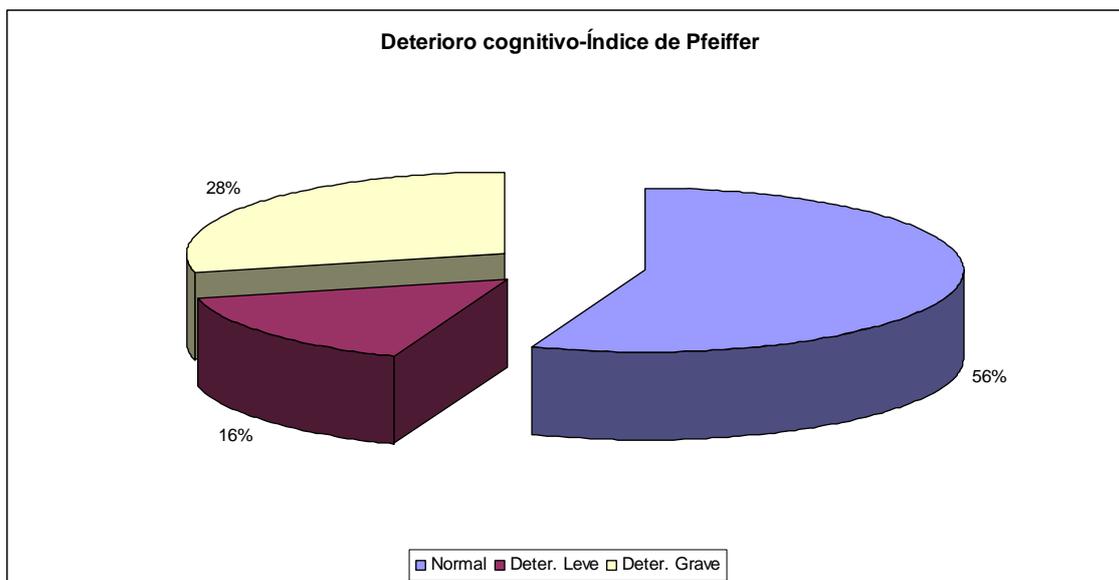


Figura 23: Perfil cognitivo de los enfermos del estudio .

En el estudio, más del 50% de los pacientes encuestados presentaban un buen estado anímico desde el punto de vista subjetivo (Tabla 20).

Tabla 20: Situación anímica de los enfermos recogidos en el estudio.

		Percepción subjetiva del estado de ánimo			
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Mala	55	18,6	19,7	19,7
	Regular	69	23,4	24,7	44,4
	Bueno	155	52,5	55,6	100,0
	Total	279	94,6	100,0	
Perdidos	Sistema	16	5,4		
Total		295	100,0		

5.1.5 MNA (VALORACIÓN NUTRICIONAL).

Más de la mitad de los enfermos incluidos en el estudio presentaban datos de desnutrición o riesgo de desarrollarlo (Figura 24).

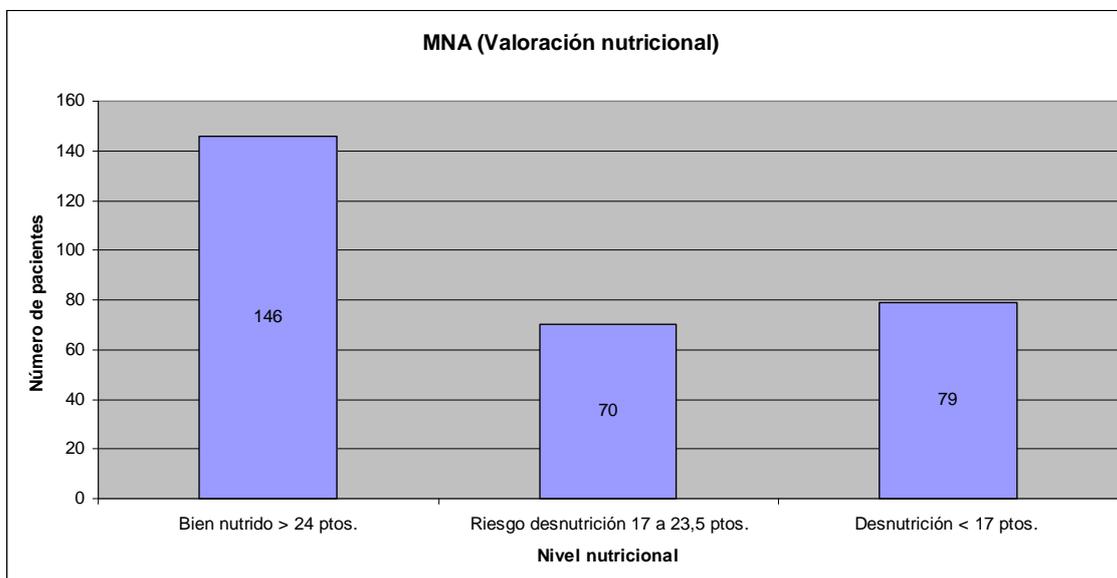


Figura 24: Estado nutricional de los enfermos del estudio.

En las siguientes tablas (Tablas 21, 22, 23 y 24) se desglosan los resultados de cada uno de los puntos que conforman el MNA.

Tabla 21: Variables incluidas en el MNA (IMC, CA, CP).

Índice de masa corporal (Kg/m ²)					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	< 19	18	6,1	6,1	6,1
	19 a < 21	47	15,9	15,9	22,0
	21 a < 23	63	21,4	21,4	43,4
	> 23	167	56,6	56,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Circunferencia del antebrazo (cms)					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	< 21	132	44,7	44,7	44,7
	21-23	64	21,7	21,7	66,4
	> 23	99	33,6	33,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Circunferencia de la pantorrilla (cms)					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	< 31	169	57,3	57,3	57,3
	> 31	126	42,7	42,7	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Tabla 22: Variables incluidas en el MNA (pérdida de peso reciente, con quien vive el enfermo, polifarmacia, estrés médico o psicológico previo, movilidad y situación cognitiva).

Pérdida de peso durante los últimos 3 meses					
		Frecuencia	Porcentaje	% válido	% acumulado
Válido	más de 3 kg	32	10,8	10,8	10,8
	no sabe	33	11,2	11,2	22,0
	1-3 kg	47	15,9	15,9	38,0
	sin pérdida de peso	183	62,0	62,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Vive independiente					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	103	34,9	34,9	34,9
	No	192	65,1	65,1	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Toma más de tres medicamentos					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	264	89,5	89,5	89,5
	No	31	10,5	10,5	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Ha sufrido estrés psicológico o una enfermedad					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	97	32,9	32,9	32,9
	No	198	67,1	67,1	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Movilidad					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Tiene que estar en la cama o en una silla	72	24,4	24,4	24,4
	Capaz de levantarse de la cama o silla pero no de salir	60	20,3	20,3	44,7
	Puede salir	163	55,3	55,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Problemas neuropsicológicos					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Demencia o depresión grave	84	28,5	28,5	28,5
	Demencia leve	46	15,6	15,6	44,1
	Sin problemas psicológicos	165	55,9	55,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Tabla 23: Variables incluidas en el MNA (úlceras de presión, número de comidas completas al día, ingesta de proteínas, ingesta de frutas o verduras, limitación de la ingesta por problemas digestivos, toma de líquidos).

Úlceras en la piel o por presión					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	27	9,2	9,2	9,2
	No	268	90,8	90,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
¿Cuántas comida completas toma el paciente al día?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	1 comida	13	4,4	4,4	4,4
	2 comidas	22	7,5	7,5	11,9
	3 comidas	260	88,1	88,1	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Indicadores seleccionados de ingesta de proteínas					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	de 0 a 1 síes	32	10,8	10,8	10,8
	2 síes	100	33,9	33,9	44,7
	3 síes	163	55,3	55,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
¿Consume dos o más derivados de frutas o verduras al día?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	73	24,7	24,7	24,7
	No	222	75,3	75,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
¿Ha reducido el consumo de alimentos durante los últimos 3 meses debido a falta de apetito, problemas digestivos o dificultades al masticar o tragar?					
		Frecuencia	%	% válido	%acumulado
Válido	Gran falta de apetito	37	12,5	12,5	12,5
	Falta de apetito moderada	64	21,7	21,7	34,2
	Sin falta de apetito	194	65,8	65,8	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
¿Cuánto líquido consume diariamente?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	< 3 tazas	27	9,2	9,2	9,2
	3-5 tazas	95	32,2	32,2	41,4
	> 5 tazas	173	58,6	58,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

Tabla 24: Variables incluidas en el MNA (manera de autoalimentarse, sensación de presencia de problemas nutricionales, estado de salud subjetivo por parte del enfermo).

Manera de autoalimentarse					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Incapaz de comer sin ayuda	69	23,4	23,4	23,4
	Se autoalimenta con dificultad	46	15,6	15,6	39,0
	Se autoalimenta sin ningún problema	180	61,0	61,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
¿Creen que tiene problemas nutricionales?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Desnutrición importante	41	13,9	13,9	13,9
	No sabe o desnutrición moderada	85	28,8	28,8	42,7
	Sin problemas nutricionales	169	57,3	57,3	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Comparado con la gente de su misma edad ¿cómo consideran su estado de salud?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	No tan bueno	112	38,0	38,0	38,0
	No sabe	61	20,7	20,7	58,6
	Igual de bueno	87	29,5	29,5	88,1
	Mejor	35	11,9	11,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	

5.1.6 FRAGILIDAD Y PERCEPCIÓN SUBJETIVA DE ENVEJECIMIENTO.

Caracterizamos a 162 pacientes (55%) como frágiles según el fenotipo de Fried (Figura 25).

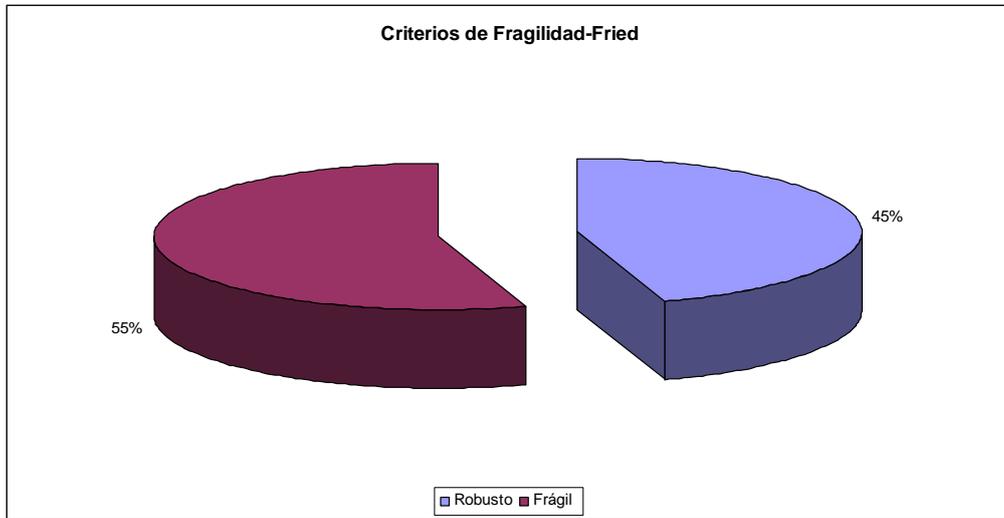


Figura 25.: Distribución de enfermos según criterios de fragilidad.

En el estudio de concordancia para valorar la coincidencia entre los dos observadores en la percepción subjetiva de la edad aparente frente a la edad real de los pacientes se obtuvo un coeficiente kappa de 0,73 (grado de acuerdo sustancial, en la escala de Landis y Koch).

En algo más del 50% de los enfermos estudiados la edad real era similar a la aparente (Figura 26).

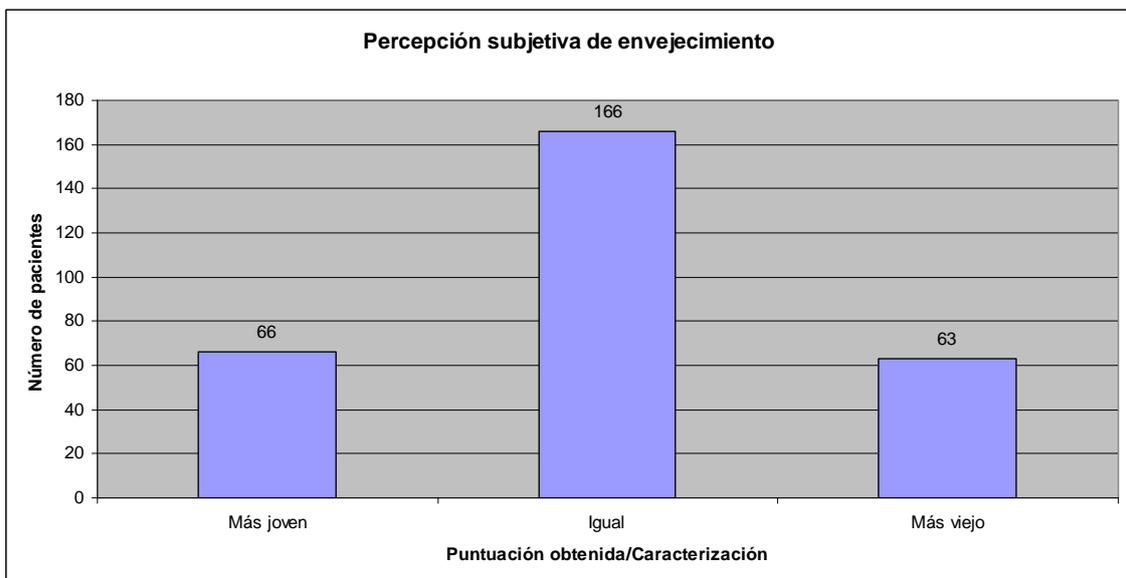


Figura 26: Distribución de los enfermos según la percepción subjetiva de envejecimiento.

5.1.7. ESCALA DE CALIDAD DE VIDA AUTOPERCIBIDA (SF-12).

A continuación exponemos la puntuación diferenciada en cada uno de los "ítems" integrantes de la escala SF-12 en las siguientes tablas (Tablas 25, 26, 27 y 28).

Tabla 25: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (1).

En general, usted diría que su salud es					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Excelente	1	,3	,3	,3
	Muy buena	16	5,4	5,5	5,8
	Buena	73	24,7	25,1	30,9
	Regular	101	34,2	34,7	65,6
	Mala	100	33,9	34,4	100,0
	Total	291	98,6	100,0	
Perdidos	Sistema	4	1,4		
Total		295	100,0		
Su salud actual, ¿le limita para esfuerzos moderados?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí, me limita mucho	166	56,3	57,0	57,0
	Sí, me limita un poco	98	33,2	33,7	90,7
	No, no me limita nada	27	9,2	9,3	100,0
	Total	291	98,6	100,0	
Perdidos	Sistema	4	1,4		
Total		295	100,0		
Su salud actual, ¿le limita para subir varios pisos?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí, me limita mucho	176	59,7	60,5	60,5
	Sí, me limita un poco	91	30,8	31,3	91,8
	No, no me limita nada	24	8,1	8,2	100,0
	Total	291	98,6	100,0	
Perdidos	Sistema	4	1,4		
Total		295	100,0		
A causa de su salud física, ¿hizo menos de lo que hubiera querido?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	225	76,3	77,3	77,3
	No	66	22,4	22,7	100,0
	Total	291	98,6	100,0	
Perdidos	Sistema	4	1,4		
Total		295	100,0		

Tabla 26: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (2).

A causa de su salud física, ¿dejó de hacer algunas tareas?					
		Frecuencia	Porcentaje	% válido	% acumulado
Válido	Sí	221	74,9	75,9	75,9
	No	70	23,7	24,1	100,0
	Total	291	98,6	100,0	
Perdidos	Sistema	4	1,4		
Total		295	100,0		
Por problemas emocionales, ¿hizo menos de lo que hubiera querido?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	72	24,4	25,9	25,9
	No	206	69,8	74,1	100,0
	Total	278	94,2	100,0	
Perdidos	Sistema	17	5,8		
Total		295	100,0		
Por problemas emocionales, ¿no hizo sus actividades cotidianas?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Sí	75	25,4	27,0	27,0
	No	202	68,5	72,7	99,6
	4	1	,3	,4	100,0
	Total	278	94,2	100,0	
Perdidos	Sistema	17	5,8		
Total		295	100,0		
En las 4 últimas semanas, ¿tuvo dolor?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Nada	60	20,3	21,4	21,4
	Un poco	127	43,1	45,2	66,5
	Regular	39	13,2	13,9	80,4
	Bastante	34	11,5	12,1	92,5
	Mucho	21	7,1	7,5	100,0
	Total	281	95,3	100,0	
Perdidos	Sistema	14	4,7		
Total		295	100,0		

Tabla 27: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (3).

En las 4 últimas semanas ¿se sintió calmado y tranquilo?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Siempre	24	8,1	8,5	8,5
	Casi siempre	112	38,0	39,9	48,4
	Muchas veces	52	17,6	18,5	66,9
	Algunas veces	43	14,6	15,3	82,2
	Solo alguna vez	43	14,6	15,3	97,5
	Nunca	7	2,4	2,5	100,0
	Total	281	95,3	100,0	
Perdidos	Sistema	14	4,7		
Total		295	100,0		
En las 4 últimas semanas ¿tuvo mucha energía?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Siempre	1	,3	,3	,3
	Casi siempre	15	5,1	5,2	5,5
	Muchas veces	38	12,9	13,1	18,6
	Algunas veces	54	18,3	18,6	37,2
	Solo alguna vez	102	34,6	35,2	72,4
	Nunca	80	27,1	27,6	100,0
	Total	290	98,3	100,0	
Perdidos	Sistema	5	1,7		
Total		295	100,0		
En las 4 últimas semanas ¿se sintió desanimado?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Siempre	7	2,4	2,5	2,5
	Casi siempre	28	9,5	10,0	12,5
	Muchas veces	26	8,8	9,3	21,8
	Algunas veces	54	18,3	19,3	41,1
	Solo alguna vez	121	41,0	43,2	84,3
	Nunca	44	14,9	15,7	100,0
	Total	280	94,9	100,0	
Perdidos	Sistema	15	5,1		
Total		295	100,0		

Tabla 28: Puntuación obtenida en las diferentes preguntas de la escala de calidad de vida SF-12 (4).

Durante las 4 últimas semanas ¿con qué frecuencia la salud física o los problemas emocionales le han dificultado sus actividades sociales?					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	Siempre	39	13,2	13,5	13,5
	Casi siempre	71	24,1	24,6	38,1
	Algunas veces	87	29,5	30,1	68,2
	Solo alguna vez	81	27,5	28,0	96,2
	Nunca	11	3,7	3,8	100,0
	Total	289	98,0	100,0	
Perdidos	Sistema	6	2,0		
Total		295	100,0		

5.1.8 FENOTIPOS DE ENVEJECIMIENTO.

El número de enfermos con fenotipos definidos de envejecimiento: envejecimiento saludable, comórbidos sanos, frágiles sanos y "failure to thrive" fue escaso, no consiguiendo encuadrar en un fenotipo concreto a la mayoría de los enfermos de la muestra (Tabla 29).

Tabla 29: Fenotipos de envejecimiento establecidos en el estudio.

Envejecimiento saludable					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	SI	3	1,0	1,0	1,0
	NO	292	99,0	99,0	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Comórbidos sanos					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	SI	18	6,1	6,1	6,1
	NO	277	93,9	93,9	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
Fragilidad sana					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	SI	4	1,4	1,4	1,4
	NO	291	98,6	98,6	100,0
	Total	295	100,0	100,0	
"Failure to thrive"					
		Frecuencia	%	% válido	% acumulado
Válido	NO	295	100,0	100,0	100,0

5.2. RESULTADOS (ESTUDIO ESTADÍSTICO).

Realizamos estudio estadístico comparando la distribución de los diferentes polimorfismos estudiados con cada una de las variables recogidas en el estudio. No encontrándose significación estadística con las variables demográficas recogidas, las escalas funcionales o cognitivas, la presencia de fragilidad, el valor nutricional de los enfermos ni la calidad de vida percibida por parte de los mismos.

5.2.1. RELACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS ESTUDIADOS CON LA COMORBILIDAD.

5.2.1.1. SNP ATG16L1 rs2241880.

Encontramos una asociación significativa entre dicho SNP y la presencia de catarata y hemiplejia (Tabla 30).

Tabla 30: Asociación entre el SNP ATG16L1 y las comorbilidades incluidas en el estudio.

Variable	p-valor	conclusión
Ceguera	0,973	No significativo
Sordera	0,459	No significativo
Úlceras por presión	0,174	No significativo
Pluripatología	0,466	No significativo
HTA	0,712	No significativo
Obesidad	0,702	No significativo.
Parkinson	0,360	No significativo.
Catarata	0,018	Significativo
DMAE	0,435	No significativo
I. Renal crónica	0,263	No significativo
Depresión	0,708	No significativo
Psicosis	0,628	No significativo
Artrosis	0,153	No significativo
Osteoporosis	0,558	No significativo
IRC cuantificado el aclaramiento	0,483	No significativo
Charlson1	0,884	No significativo
Infarto de miocardio	0,945	No significativo
Insuficiencia cardiaca	0,054	No significativo
Enfermedad arterial periférica	0,540	No significativo
ACV	0,166	No significativo
Demencia	0,169	No significativo
EPOC	0,768	No significativo
Enfermedad del tejido conectivo	0,085	No significativo
Úlcera gastroduodenal	0,524	No significativo
Hepatopatía leve	0,217	No significativo
Diabetes mellitus	0,581	No significativo
Hemiplejia	0,007	Significativo
I. Renal crónica grave	0,052	No significativo
Diabetes con repercusión	0,592	No significativo
Tumor	0,594	No significativo
Leucemia	0,843	No significativo
Linfoma	>0,99	No significativo
Hepatopatía grave	0,125	No significativo
Tumor metastásico	0,184	No significativo

5.2.1.2. SNP ATG2B rs3759601.

No encontramos ninguna relación asociativa entre el SNP ATG2B y las diferentes comorbilidades recogidas en el estudio (Tabla 31).

Tabla 31: Asociación entre el SNP ATG2B y las comorbilidades incluidas en el estudio.

Variable	p-valor	conclusión
Ceguera	0,407	No significativo
Sordera	0,620	No significativo
Úlceras por presión	0,842	No significativo
Pluripatología	0,509	No significativo
HTA	0,254	No significativo
Obesidad	0,936	No significativo
Parkinson	<0,999	No significativo
Catarata	0,490	No significativo
DMAE	0,836	No significativo
I. Renal crónica	0,441	No significativo
Depresión	0,392	No significativo
Psicosis	0,172	No significativo
Artrosis	0,903	No significativo
Osteoporosis	0,277	No significativo
IRC cuantificado el aclaramiento	0,094	No significativo
Charlson1	0,436	No significativo
Infarto de miocárdico	0,191	No significativo
Insuficiencia cardiaca	0,199	No significativo
Enfermedad arterial periférica	0,223	No significativo
ACV	0,200	No significativo
Demencia	0,326	No significativo
EPOC	0,347	No significativo
Enfermedad del tejido conectivo	0,505	No significativo
Úlcera gastroduodenal	0,126	No significativo
Hepatopatía leve	0,737	No significativo
Diabetes Mellitus	0,390	No significativo
Hemiplejia	0,806	No significativo
I. Renal crónica grave	0,590	No significativo
Diabetes con repercusión	0,357	No significativo
Tumor	0,470	No significativo
Leucemia	0,828	No significativo
Linfoma	0,343	No significativo
Hepatopatía grave	0,613	No significativo
Tumor metastásico	0,729	No significativo

5.2.1.3. SNP ATG 5 rs2245214.

Encontramos asociación entre el SNP de ATG5 y la enfermedad de Parkinson (Tabla 32).

Tabla 32: Asociación entre el SNP ATG5 y las comorbilidades incluidas en el estudio.

Variable	p-valor	conclusión
Ceguera	0,881	No significativo
Sordera	0,905	No significativo
Úlceras por presión	0,894	No significativo
Pluripatología	0,541	No significativo
HTA	0,851	No significativo
Obesidad	0,943	No significativo
Parkinson	0,044	Significativo
Catarata	0,900	No significativo
DMAE	0,313	No significativo
I. Renal crónica	0,845	No significativo
Depresión	0,765	No significativo
Psicosis	>0,999	No significativo
Artrosis	0,760	No significativo
Osteoporosis	0,965	No significativo
IRC cuantificado el aclaramiento	0,078	No significativo
Charlson1	0,823	No significativo
Infarto de miocardio	0,819	No significativo
Insuficiencia cardiaca	0,415	No significativo
Enfermedad arterial periférica	0,841	No significativo
ACV	0,472	No significativo
Demencia	0,567	No significativo
EPOC	0,327	No significativo
Enfermedad del tejido conectivo	0,533	No significativo
Úlcera gastroduodenal	0,466	No significativo
Hepatopatía leve	0,495	No significativo
Diabetes mellitus	0,260	No significativo
No significativo Hemiplejía	0,444	No significativo
I. Renal crónica grave	0,127	No significativo
Diabetes con repercusión	0,608	No significativo
Tumor	0,966	No significativo
Leucemia	0,548	No significativo
Linfoma	>0,999	No significativo
Hepatopatía grave	0,238	No significativo
Tumor metastásico	>0,999	No significativo

5.2.1.4. SNP ATG 10 rs1864183.

Encontramos asociación entre el SNP de ATG 10 y la diabetes mellitus con repercusión de órgano diana (Tabla 33).

Tabla 33: Asociación entre el SNP ATG10 y las comorbilidades incluidas en el estudio.

Variable	p-valor	conclusión
Ceguera	0,537	No significativo
Sordera	0,612	No significativo
Úlceras por presión	0,198	No significativo
Pluripatología	0,753	No significativo
HTA	0,926	No significativo
Obesidad	0,833	No significativo
Parkinson	0,277	No significativo
Catarata	0,574	No significativo
DMAE	0,499	No significativo
I. Renal crónica	0,916	No significativo
Depresión	0,281	No significativo
Psicosis	>0,999	No significativo
Artrosis	0,255	No significativo
Osteoporosis	0,502	No significativo
IRC cuantificado el aclaramiento	0,676	No significativo
Charlson1	0,623	No significativo
Infarto de miocardio	0,453	No significativo
Insuficiencia cardiaca	0,658	No significativo
Enfermedad arterial periférica	0,432	No significativo
ACV	0,831	No significativo
Demencia	0,238	No significativo
EPOC	0,701	No significativo
Enfermedad del tejido conectivo	0,666	No significativo
Úlcera gastroduodenal	0,511	No significativo
Hepatopatía leve	>0,999	No significativo
DM	0,734	No significativo
Hemiplejía	0,273	No significativo
I. renal crónica grave	0,776	No significativo
Diabetes con repercusión	0,035	Significativo
Tumor	0,975	No significativo
Leucemia	0,171	No significativo
Linfoma	>0,999	No significativo
Hepatopatía grave	0,319	No significativo
Tumor metastásico	0,861	No significativo

5.2.1.5. SNP XRCC1 rs1799782.

Encontramos asociación entre el SNP XRCC1 la pluripatología, la HTA y la enfermedad de tejido conectivo (Tabla 34).

Tabla 35: Asociación entre el SNP XRCC1 y las comorbilidades incluidas en el estudio.

Variable	p-valor	conclusión
Ceguera	0,750	No significativo
Sordera	0,142	No significativo
Úlceras por presión	0,271	No significativo
Pluripatología	0,007	Significativo
HTA	0,013	Significativo
Obesidad	0,086	No significativo
Parkinson	0,472	No significativo
Catarata	0,704	No significativo
DMAE	>0,999	No significativo
I. renal crónica	>0,999	No significativo
Depresión	0,161	No significativo
Psicosis	>0,999	No significativo
Artrosis	0,304	No significativo
Osteoporosis	0,274	No significativo
IRC cuantificado el aclaramiento	0,479	No significativo
Charlson1	0,108	No significativo
Infarto de miocardio	0,518	No significativo
Insuficiencia cardiaca	0,288	No significativo
Enfermedad arterial periférica	0,821	No significativo
ACV	0,564	No significativo
Demencia	0,301	No significativo
EPOC	0,956	No significativo
Enfermedad del tejido conectivo	0,048	Significativo
Úlcera gastroduodenal	0,365	No significativo
Hepatopatía leve	>0,999	No significativo
Diabetes mellitus	0,608	No significativo
Hemiplejía	0,710	No significativo
I. Renal crónica grave	0,351	No significativo
Diabetes con repercusión	0,543	No significativo
Tumor	0,406	No significativo
Leucemia	>0,999	No significativo
Linfoma	>0,999	No significativo
Hepatopatía grave	0,494	No significativo
Tumor metastásico	0,642	No significativo

5.2.1.6. SNP XPD/ERCC2 rs13181.

Encontramos asociación entre el SNP (ERCC2) la obesidad, la depresión y la IRC (Tabla 35).

Tabla 35: Asociación entre el SNP XPD/ERCC2 y las comorbilidades incluidas en el estudio.

Variable	p-valor	conclusión
Ceguera	0,937	No significativo
Sordera	0,537	No significativo
Úlceras por presión	0,948	No significativo
Pluripatología	0,717	No significativo
HTA	0,943	No significativo
Obesidad	0,006	Significativo
Parkinson	0,569	No significativo
Catarata	0,798	No significativo
DMAE	0,842	No significativo
I. renal crónica	0,268	No significativo
Depresión	0,043	Significativo
Psicosis	0,503	No significativo
Artrosis	0,065	No significativo
Osteoporosis	0,730	No significativo
IRC cuantificado el aclaramiento	0,312	No significativo
Charlson1	0,673	No significativo
Infarto de miocardio	0,614	No significativo
Insuficiencia cardiaca	0,908	No significativo
Enfermedad arterial periférica	0,221	No significativo
ACV	0,298	No significativo
Demencia	0,691	No significativo
EPOC	0,933	No significativo
Enfermedad del tejido conectivo	0,315	No significativo
Úlcera gastroduodenal	0,932	No significativo
Hepatopatía leve	0,192	No significativo
Diabetes mellitus	0,509	No significativo
Hemiplejía	0,556	No significativo
I. renal crónica grave	0,007	Significativo
Diabetes repercusión	0,236	No significativo
Tumor	0,228	No significativo
Leucemia	0,160	No significativo
Linfoma	<0,999	No significativo
Hepatopatía grave	<0,999	No significativo
Tumor metastásico	0,863	No significativo

5.2.1.7. SNP TP53 rs1042522.

Encontramos asociación entre SNP de PT53 y la presencia de neoplasia metastásica (Tabla 36).

Tabla 36: Asociación entre el SNP p53 y las comorbilidades incluidas en el estudio.

Variable	p-valor	conclusión
Ceguera	0,450	No significativo
Sordera	0,345	No significativo
Úlceras por presión	0,495	No significativo
Pluripatología	0,730	No significativo
HTA	0,019	No significativo
Obesidad	0,685	No significativo
Parkinson	0,055	No significativo
Catarata	0,893	No significativo
DMAE	0,359	No significativo
I. Renal crónica	0,677	No significativo
Depresión	0,986	No significativo
Psicosis	0,052	No significativo
Artrosis	0,240	No significativo
Osteoporosis	0,244	No significativo
IRC cuantificado el aclaramiento	0,253	No significativo
Charlson1	0,195	No significativo
IM	0,206	No significativo
Insuficiencia cardiaca	0,055	No significativo
Enfermedad arterial periférica	0,933	No significativo
ACV	0,815	No significativo
Demencia	0,963	No significativo
EPOC	0,927	No significativo
Enfermedad del tejido conectivo	0,885	No significativo
Úlcera gastroduodenal	0,766	No significativo
Hepatopatía leve	0,665	No significativo
Diabetes mellitus	0,451	No significativo
Hemiplejia	0,163	No significativo
I. Renal crónica grave	0,857	No significativo
Diabetes con repercusión	0,358	No significativo
Tumor	0,203	No significativo
Leucemia	0,602	No significativo
Linfoma	0,052	No significativo
Hepatopatía grave	0,746	No significativo
Tumor metastásico	0,022	Significativo

5.3. RESULTADOS ASOCIATIVOS POSITIVOS ENTRE LOS POLIMORFISMOS ESTUDIADOS Y LAS COMORBILIDADES.

5.3.1. SNP ATG16L1 rs2241880 Y CATARATA.

A continuación se exponen los resultados del estudio estadístico realizado entre el SNP ATG16L1 rs2241880 y la catarata. Encontramos un asociación significativa entre ambas entidades, $p=0,018$.

Tabla 37: Distribución de genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con el antecedente de catarata.

Polimorfismo ATG16L1 y catarata/Tabulación cruzada					
			Catarata		Total
			Sí	No	
Polimorfismo ATG16L1	TT	Recuento	19	50	69
		% dentro de Polimorfismo ATG16L1	27,5%	72,5%	100,0%
	TC	Recuento	24	123	147
		% dentro de Polimorfismo ATG16L1	16,3%	83,7%	100,0%
	CC	Recuento	8	71	79
		% dentro de Polimorfismo ATG16L1	10,1%	89,9%	100,0%
Total	Recuento	51	244	295	
	% dentro de Polimorfismo ATG16L1	17,3%	82,7%	100,0%	

En los enfermos con catarata, la presencia del genotipo TT del SNP ATG16L1, se asocia a una odds de 3,4 (IC 95%: 1,4-8,3) (Tablas 37 y 38).

Tabla 38: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con la catarata.

Polimorfismo ATG16L1 y catarata					
		Sig.	Exp(B) (or)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG16L1	,022			
	ATG16L1(1)	,057	1,948	,981	3,866
	ATG16L1(2)	,008	3,372	1,369	8,310
	Constante	,000	2,632		

Ni el sexo ni la edad suponían factores de confusión en el resultado obtenido (Tabla 39).

Tabla 39: Odds entre el SNP de ATG16L1 y la catarata ajustados por sexo y edad.

Polimorfismo ATG16L1 y catarata, ajuste por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG16L1	,022			
	ATG16L1(1)	,053	2,002	,992	4,039
	ATG16L1(2)	,008	3,431	1,376	8,558
	Edad	,039	,951	,907	,997
	Sexo(1)	,504	1,247	,652	2,384
	Constante	,017	167,356		

En el estudio de distribución alélica, no se encontró asociación significativa, estando al borde de la significación, $p=0,056$. La odds-ratio es de 1,8 (IC 95%: 1,2-2,8), esto es, el alelo T resulta un factor de riesgo para la enfermedad aunque no significativo (Tabla 40).

Tabla 40: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en enfermos con catarata.

Alelos	Si	No
T	62	223
C	40	265
Alelos	Si	No
T	21,75	78,25
C	13,11	86,89

En el análisis de alelos dominantes, la asociación resultó significativa para el alelo T ($p=0,01$) (Tabla 41).

Tabla 41: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en los enfermos con catarata, modelo dominante.

ATG16L1 Alelo dominante y catarata/Tabulación cruzada					
			Catarata		Total
			Sí	No	
ATG16L1TT	TT	Recuento	19	50	69
		% dentro de ATGHL16DOM	27,5%	72,5%	100,0%
	TC+CC	Recuento	32	194	226
		% dentro de ATG16L1DOM	14,2%	85,8%	100,0%
Total	Recuento		51	244	295
	% dentro de ATG16L1DOM		17,3%	82,7%	100,0%

En el estudio de distribución alélica, modelo dominante, se observó que la presencia del genotipo TT se asocia a una odds ratio de presentar catarata de 2,3 (IC 95%: 1,2-4,4) (Tabla 42).

Tabla 42: Odds obtenidas por el alelo dominante del SNP ATG16L1 en enfermos con catarata.

Estimación de riesgo alelo dominante			
	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Odds ratio para ATG16L1 (TT/TC+CC)	2,304	1,206	4,401

En el análisis de alelos recesivos, no se encontró significación estadística, $p=0,055$ (Tablas 43 y 44).

Tabla 43: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en los enfermos con catarata, modelo recesivo.

ATG16L1 Alelo recesivo y catarata/Tabulación cruzada					
			Catarata		Total
			Sí	No	
ATG16L1CC	CC	Recuento	8	71	79
		% dentro de ATG16L1REC	10,1%	89,9%	100,0%
	TC+TT	Recuento	42	172	214
		% dentro de ATG16RL1REC	19,6%	80,4%	100,0%
Total	Recuento	50	243	293	
	% dentro de ATG16L1REC	17,1%	82,9%	100,0%	

Tabla 44: Odds obtenidas en estudio alélico modelo recesivo del SNP AGT16L1 en enfermos con catarata.

Estimación de riesgo alelo recesivo			
	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Odds ratio para ATG16L1 (FF/VF+VV)	,461	,206	1,032

5.3.2. SNP ATG16L1 rs2241880 Y HEMIPLEJIA.

A continuación se exponen los resultados del estudio estadístico realizado entre el SNP ATG16L1 rs2241880 y la hemiplejía.

La asociación entre ambas entidades resultó significativo, $p=0,007$.

Tabla 45: Distribución de genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con el antecedente de hemiplejía.

Polimorfismo ATG16L1 y hemiplejía/Tabulación cruzada					
			Hemiplejía		Total
			Sí	No	
Polimorfismo ATG16L1	TT	Recuento	0	69	69
		% dentro de Polimorfismo ATG16L1	0,0%	100,0%	100,0%
	TC	Recuento	3	144	147
		% dentro de Polimorfismo ATG16L1	2,0%	98,0%	100,0%
	CC	Recuento	7	72	79
		% dentro de Polimorfismo ATG16L1	8,9%	91,1%	100,0%
Total		Recuento	10	285	295
		% dentro de Polimorfismo ATG16L1	3,4%	96,6%	100,0%

Si se analiza el modelo codominante mediante la regresión logística para el cálculo de las odds-ratios, el resultado es el siguiente: La odds de presentar hemiplejía es 14,3 (IC 95%: 1,2-18,6) para genotipo CC en relación al TT (Tablas 45 y 46).

Tabla 46: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con la hemiplejía.

ATG16L1 y hemiplejía distribución genotípica					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG16L1	,092			
	ATG16L1(1)	-	-	-	.
	ATG16L1(2)	,029	4,667	1,172	18,582
	Constante	,000	10,286		

Al ajustar por sexos y edades los resultados son muy parecidos (Tabla 47).

Tabla 47: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG16L1 en relación con la hemiplejía tras la modificación estadística pertinente por edad y sexo.

ATG16L1 y hemiplejía distribución genotípica ajustado por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG16L1	,030			
	ATG16L1(1)	,070	14,379	,806	256,556
	ATG16L1(2)	,029	4,271	1,164	15,667
	Constante	,000	9,667		

En el estudio de distribución alélica, la asociación es altamente significativa $p=0,0024$. La odds-ratio es de 0,2 (IC 95%: 0,1-0,6), esto es, el alelo T es protector. Al analizar el lugar del alelo T frente C, el alelo C frente a T: odds-ratio 5,6 (IC 95%: 1,6-19,4) (Tabla 48).

Tabla 48: Distribución alélica del SNP ATG16L1 en enfermos con hemiplejía.

Alelos	Si	No
T	3	282
C	17	288
Alelos	Si	No
T	1,05	98,95
C	5,57	94,43

En el estudio del modelo dominante, detectamos una asociación significativa ($p=0,005$). La odds-ratio es de 6,8 (IC 95% 1,7-27,1), es decir la posibilidad de hemiplejía es casi 7 veces mayor en el genotipo CC que la suma de TC+TT (Tablas 49 y 50).

Tabla 49: Distribución de los alelos del SNP ATG16L1 en los enfermos con hemiplejía, modelo dominante.

ATG16L1 y hemiplejía modelo dominante/Tabulación cruzada					
			Hemiplejía		Total
			Sí	No	
ATG16L1CC	CC	Recuento	7	72	79
		% dentro de ATG16L1Dom	8,9%	91,1%	100,0%
	TC+TT	Recuento	3	211	214
		% dentro de ATG16L1Dom	1,4%	98,6%	100,0%
Total	Recuento		10	283	293
	% dentro de ATG16L1Dom		3,4%	96,6%	100,0%

Tabla 50: Odds obtenidas por el alelo dominante del SNP AGT16L1 en enfermos con hemiplejía.

Estimación de riesgo del alelo dominante			
	Valor	Intervalo de confianza de 95 %	
		Inferior	Superior
Odds ratio para ATG16L1 (CC/TC+TT)	6,838	1,723	27,145

En el modelo recesivo no se ha detectado una asociación significativa $p=0,124$. La odds-ratio estimada es de 0,1 (IC 95%: 0.0-2.6) (Tabla 51).

Tabla 51: Distribución de los alelos del SNP ATG16L1 en los enfermos con hemiplejía, modelo recesivo.

ATG16L1 y hemiplejía modelo recesivo/Tabulación cruzada					
			Hemiplejía		Total
			Sí	No	
ATG16L1TT	TT	Recuento	0	69	69
		% dentro de ATG16L1Rec	0,0%	100,0%	100,0%
	TC+CC	Recuento	10	216	226
		% dentro de ATG16L1Rec	4,4%	95,6%	100,0%
Total	Recuento		10	285	295
	% dentro de ATG16L1Rec		3,4%	96,6%	100,0%

5.3.3. SNP ATG5 rs2245214 Y ENFERMEDAD DE PARKINSON.

A continuación se exponen los resultados del estudio estadístico realizado entre el SNP ATG5 rs2245214 y la enfermedad de Parkinson.

Tabla 52: Distribución de genotipos del SNP de ATG5 en relación con la enfermedad de Parkinson.

Polimorfismo ATG5 y enfermedad de Parkinson/Tabulación cruzada					
			Enfermedad de Parkinson		Total
			Sí	No	
Polimorfismo ATG5	CC	Recuento	5	107	112
		% dentro de Polimorfismo ATG5	4,5%	95,5%	100,0%
	CG	Recuento	5	143	148
		% dentro de Polimorfismo ATG5	3,4%	96,6%	100,0%
	GG	Recuento	5	30	35
		% dentro de Polimorfismo ATG5	14,3%	85,7%	100,0%
Total		Recuento	15	280	295
		% dentro de Polimorfismo ATG5	5,1%	94,9%	100,0%

Encontramos una asociación significativa entre dicho SNP y la enfermedad de Parkinson, $p=0,044$. Las odds-ratios no son significativas. La comparación CC-GG es próxima a la significación donde la odds-ratio es 0,3, por lo tanto CC es un factor protector frente GG que sería de riesgo con respecto a la enfermedad de parkinson (Tablas 52 y 53).

Tabla 53: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG5 en relación con la enfermedad de Parkinson.

Polimorfismo ATG5 y enfermedad de Parkinson/distribución genotípica					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG5	,046			
	ATG5(1)	,653	1,336	,377	4,734
	ATG5(2)	,056	,280	,076	1,033
	Constante	,000	21,400		

Si ajustamos por edad y género, una vez más no hay cambios importantes en las magnitudes de las odds-ratio (Tabla 54).

Tabla 54: Odds entre el SNP de ATG5 y la enfermedad de Parkinson ajustados por sexo y edad.

SNP ATG5 y enfermedad de Parkinson genotipos ajustados por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG5	,036			
	ATG5(1)	,659	1,330	,374	4,731
	ATG5(2)	,045	,256	,068	,968
	Sexo	,485	1,476	,495	4,402
	Edad	,733	1,013	,940	1,092
	Constante	,657	4,044		

En el estudio de distribución alélica no encontramos diferencias significativas. $p=0,1285$. La odds ratio es 0,6 (IC 95%: 0,3-1,2) (Tabla 55).

Tabla 55: Distribución alélica del SNP ATG5 en enfermos con Parkinson.

Alelos	Si	No
C	15	357
G	15	203
Alelos	Si	No
C	4,03	95,97
G	6,88	93,12

En el estudio de distribución alélica siguiendo el modelo dominante. La asociación si es significativa ($p=0,022$). El odds-ratio 4,2 (IC 95%: 1,4-13,0) (Tabla 56).

Tabla 56: Distribución alélica del SNP ATG5 en los enfermos con Parkinson siguiendo el modelo dominante.

ATG5 y enfermedad de Parkinson modelo dominante/Tabulación cruzada					
			Enfermedad de Parkinson		Total
			Sí	No	
ATG5GG	GG	Recuento	5	30	35
		% dentro de ATG5GG	14,3%	85,7%	100,0%
	CG+CC	Recuento	10	250	260
		% dentro de ATG5GG	3,8%	96,2%	100,0%
Total	Recuento		15	280	295
	% dentro de ATG5GG		5,1%	94,9%	100,0%

En el estudio de distribución alélica siguiendo el modelo recesivo, el p-valor de esta asociación es 0,791. Siendo la odds-ratio de 0,8 (IC 95%: 0,3-2,4) (Tabla 57).

Tabla 57: Distribución alélica del SNP ATG5 en los enfermos con Parkinson siguiendo el modelo recesivo.

ATG5 y enfermedad de Parkinson modelo recesivo/Tabulación cruzada					
			Enfermedad de Parkinson		Total
			Sí	No	
ATG5CC	CC	Recuento	5	107	112
		% dentro de ATG5CC	4,5%	95,5%	100,0%
	CC+GG	Recuento	10	173	183
		% dentro de ATG5CC	5,5%	94,5%	100,0%
Total		Recuento	15	280	295
		% dentro de ATG5CC	5,1%	94,9%	100,0%

5.3.4. SNP ATG10 rs1864183 Y DIABETES CON REPERCUSIÓN DE ÓRGANO DIANA.

Encontramos asociación significativa entre del SNP de ATG10 y la diabetes mellitus con afectación de órgano diana, $p=0,035$.

Tabla 58: Distribución de genotipos del SNP de ATG10 en relación con la presencia de diabetes con repercusión de órganos diana.

Polimorfismo ATG10 y diabetes con lesión de órganos diana genotipos/Tabulación cruzada					
			Diabetes mellitus con lesión de órganos diana		Total
			Sí	No	
Polimorfismo ATG10	CC	Recuento	4	87	91
		% dentro de Polimorfismo ATG10	4,4%	95,6%	100,0%
	CT	Recuento	21	126	147
		% dentro de Polimorfismo ATG10	14,3%	85,7%	100,0%
	TT	Recuento	4	53	57
		% dentro de Polimorfismo ATG10	7,0%	93,0%	100,0%
Total		Recuento	29	266	295
		% dentro de Polimorfismo ATG10	9,8%	90,2%	100,0%

El genotipo CC es factor protector frente al resto de genotipos, si bien la odds-ratio es significativa cuando lo comparamos con CT ($p=0,028$) pero no cuando lo hacemos con TT ($p=0,61$) (Tablas 58 y 59).

Tabla 59: Odds de los diferentes genotipos del SNP de ATG10 en relación con la diabetes con repercusión de órganos diana.

Distribución genotípica del SNP ATG10 y la diabetes con repercusión orgánica					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG10	,044			
	ATG10(1)	,022	,276	,091	,832
	ATG10(2)	,496	,609	,146	2,539
	Constante	,000	21,750		

Al ajustar por sexo y edad no encontramos cambios significativos (Tabla 60).

Tabla 60: Odds entre el SNP de ATG10 y la diabetes con repercusión de órganos diana ajustados por sexo y edad.

Distribución genotípica del SNP ATG10 y la diabetes con repercusión orgánica ajustada por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	ATG10	,049			
	ATG10(1)	,025	,279	,091	,849
	ATG10(2)	,500	,610	,145	2,565
	Sexo(1)	,621	1,224	,549	2,728
	Edad	,067	1,051	,996	1,109
	Constante	,611	,303		

En el estudio de los diferentes alelos no encontramos diferencias significativas, $p=0,35$ (Tabla 61).

Tabla 61: Distribución alélica del SNP ATG10 en enfermos con diabetes con repercusión de órganos diana.

Alelos	Si	No
C	29	300
T	29	232
Alelos	Si	No
C	8,81	91,19
T	11,11	88,89

En el estudio de distribuciones alélicas, modelo dominante, la asociación no es significativa ($p=0,62$). La odds-ratio es de 0,6 (IC 95%: 0,2-1,9) (Tabla 62).

Tabla 62: Distribución alélica del SNP ATG10 en los enfermos con diabetes mellitus con repercusión de órganos diana, modelo dominante.

AGT10 y diabetes con lesión de órganos diana modelo dominante/Tabulación cruzada					
			Diabetes mellitus con lesión de órganos diana		Total
			Sí	No	
ATG10TT	TT	Recuento	4	53	57
		% dentro de ATG10TT	7,0%	93,0%	100,0%
	CT+CC	Recuento	25	213	238
		% dentro de ATG10TT	10,5%	89,5%	100,0%
Total		Recuento	29	266	295
		% dentro de ATG10TT	9,8%	90,2%	100,0%

En el estudio de distribuciones alélicas, modelo recesivo, la asociación resultó significativa, $p=0,036$, siendo la odds-ratio de 0,3 (IC 95%: 0,1-1,0) (Tabla 63).

Tabla 63: Distribución alélica del SNP ATG10 en los enfermos con diabetes con repercusión de órgano diana, modelo recesivo.

AGT10 y diabetes mellitus con lesión de órganos diana modelo recesivo/Tabulación cruzada					
			Diabetes mellitus con lesión de órganos diana		Total
			Sí	No	
ATG10CC	CC	Recuento	4	87	91
		% dentro de ATG10CC	4,4%	95,6%	100,0%
	CT+TT	Recuento	25	179	204
		% dentro de ATG10CC	12,3%	87,7%	100,0%
Total		Recuento	29	266	295
		% dentro de ATG10CC	9,8%	90,2%	100,0%

5.3.5. SNP XRCC1 rs1799782 Y PLURIPATOLOGÍA.

La asociación resulta significativa, $p=0,007$.

Tabla 64: Distribución de genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la pluripatología.

Polimorfismo XRCC1 y pluripatología genotipos/Tabulación cruzada					
			Pluripatología		Total
			Sí	No	
Polimorfismo XRCC1	TT	Recuento	4	3	7
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	57,1%	42,9%	100,0%
	CT	Recuento	27	12	39
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	69,2%	30,8%	100,0%
	CC	Recuento	214	35	249
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	85,9%	14,1%	100,0%
Total		Recuento	245	50	295
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	83,1%	16,9%	100,0%

El modelo codominante presenta las siguientes odds-ratio, de TT frente al resto de genotipos, si bien ninguno es significativo. Próximo a la significación encontramos la odds-ratio que enfrenta TT con CC (Tablas 64 y 65).

Tabla 65: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la pluripatología.

XRCC1 y pluripatología Genotipos					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XRCC1	,010			
	XRCC1(1)	,533	,593	,114	3,068
	XRCC1(2)	,052	,218	,047	1,016
	Constante	,706	,750		

Si ajustamos por la edad y el género hay una reducción de las odds-ratio que hace que el correspondiente a TT frente a CC, sea significativo (Tabla 66).

Tabla 66: Odds entre el SNP de XRCC1 y la pluripatología ajustados por sexo y edad.

XRCC1 y pluripatología distribución genotípica tras ajuste por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XRCC1	,011			
	XRCC1(1)	,428	,510	,096	2,698
	XRCC1(2)	,041	,199	,042	,938
	Sexo(1)	,223	1,490	,785	2,831
	Edad	,678	,991	,948	1,035
	Constante	,851	1,481		

En el estudio de distribución alélica, la asociación es altamente significativa ($p=0,0005$), la odds-ratio es 0,4 (IC 95%: 0,2-0,7) (Tabla 67).

Tabla 67: Distribución alélica del SNP XRCC1 en enfermos con pluripatología.

Alelos	Si	No
T	35	18
C	455	82
Alelos	Si	No
T	66,04	33,96
C	84,73	15,27

En el análisis del modelo dominante, la asociación es altamente significativa con una odds-ratio de 3,0 (1,5-6,0) (Tabla 68).

Tabla 68: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo dominante.

XRCC1 y pluripatología, distribución alélica modelo dominante/Tabulación cruzada					
			Pluripatología		Total
			Sí	No	
XRCC1CC	CC	Recuento	214	35	249
		% dentro de XRCC1CC	85,9%	14,1%	100,0%
	CT+TT	Recuento	31	15	46
		% dentro de XRCC1CC	67,4%	32,6%	100,0%
Total	Recuento		245	50	295
	% dentro de XRCC1CC		83,1%	16,9%	100,0%

Al ajustar por edad y sexo, la odds-ratio no cambia demasiado, desciende a 2,9 (Tabla 69).

Tabla 69: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo dominante ajustados por edad y sexo.

XRCC1 y pluripatología, distribución alélica modelo dominante ajustada por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1ª	Sexo(1)	,252	1,450	,767	2,740
	Edad	,701	,991	,949	1,036
	XRCC1CC(1)	,004	2,865	1,400	5,865
	Constante	,510	,281		

En el caso del modelo recesivo, no hay una asociación estadísticamente significativa ($p=0,097$). La odds-ratio es 0,3 (IC 95%: 0,1-1,2) (Tabla 70).

Tabla 70: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo recesivo.

XRCC1 y pluripatología, distribución alélica modelo recesivo/Tabulación cruzada					
			Pluripatología		Total
			Sí	No	
XRCC1TT	TT	Recuento	4	3	7
		% dentro de XRCC1TT	57,1%	42,9%	100,0%
	CT+CC	Recuento	241	47	288
		% dentro de XRCC1TT	83,7%	16,3%	100,0%
Total	Recuento		245	50	295
	% dentro de XRCC1TT		83,1%	16,9%	100,0%

Si ajustamos por género y edad, la odds-ratio es un poco más pequeña, aunque los cambios no son importantes (Tabla 71).

Tabla 71: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con pluripatología siguiendo el modelo recesivo ajustados por sexo y edad.

XRCC1 y pluripatología, distribución alélica modelo recesivo ajustada por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1ª	Sexo(1)	,158	1,578	,838	2,971
	Edad	,617	,989	,947	1,033
	XRCC1TT(1)	,063	,231	,049	1,083
	Constante	,798	1,699		

5.3.6. SNP XRCC1 rs1799782 E HIPERTENSIÓN ARTERIAL.

Encontramos una asociación significativa entre ambas $p=0,013$.

Tabla 72: Distribución de genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la HTA.

SNP XRCC1 e HTA genotipos/Tabulación cruzada					
			HTA		Total
			Sí	No	
Polimorfismo XRCC1	TT	Recuento	4 _a	3 _a	7
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	57,1%	42,9%	100,0%
	CT	Recuento	20 _a	19 _b	39
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	51,3%	48,7%	100,0%
	CC	Recuento	183 _a	66 _b	249
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	73,5%	26,5%	100,0%
Total		Recuento	207	88	295
		% dentro de Polimorfismo XRCC1	70,2%	29,8%	100,0%

Cada letra del subíndice denota un subconjunto de HTA categorías cuyas proporciones de columna no difieren de forma significativa entre sí en el nivel ,05.

TT resulta un factor de riesgo frente al heterocigótico (CT) y protector frente al homocigótico CC (Tablas 72 y 73).

Tabla 73: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XRCC1 en relación con la HTA.

SNP XRCC1 e HTA genotipos					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XRCC1	,017			
	XRCC1(1)	,775	1,267	,250	6,422
	XRCC1(2)	,346	,481	,105	2,206
	Constante	,706	,750		

Al ajustar por sexo y edad, se reducen las odds-ratios pero los cambios no son importantes (Tabla 74).

Tabla 74: Odds entre el SNP de XRCC1 y la HTA ajustados por sexo y edad.

SNP XRCC1 e HTA genotipos ajustados por edad y sexo					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1ª	XRCC1	,022			
	XRCC1(1)	,866	1,151	,224	5,916
	XRCC1(2)	,311	,453	,098	2,097
	Sexo(1)	,188	1,420	,843	2,394
	Edad	,811	1,004	,969	1,041
	Constante	,666	,464		

En la distribución de alelos, la asociación es significativa ($p = 0,003$) siendo la odds-ratio de 0,44 (IC 95%: 0,3-0,8) (Tabla 75).

Tabla 75: Distribución alélica del SNP XRCC1 en enfermos con HTA.

Alelos	Si	No
T	28	25
C	386	151
Alelos	Si	No
T	52,83	47,17
C	71,88	28,12

Para el estudio dominante, la asociación es altamente significativa ($p = 0,005$). La odds-ratio es 2,5 (IC 95%: 1,3-4,8). Al ajustar por edad y género se reduce la odds-ratio a 2,5 (Tabla 76).

Tabla 76: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con HTA siguiendo el modelo dominante.

Distribución alélica SNP XRCC1 e HTA modelo dominante/Tabulación cruzada					
			HTA		Total
			Sí	No	
XRCC1CC	CC	Recuento	183	66	249
		% dentro de XRCC1CC	73,5%	26,5%	100,0%
	CT+TT	Recuento	24	22	46
		% dentro de XRCC1CC	52,2%	47,8%	100,0%
Total		Recuento	207	88	295
		% dentro de XRCC1CC	70,2%	29,8%	100,0%

(Tab

En el modelo recesivo, la asociación no es significativa ($p=0,429$). La odds-ratio es 0,6 (0,1-2,6). Si ajustamos por edad y género se reduce la odds-ratio un poco (0,5) y sigue siendo no significativa (Tabla 77).

Tabla 77: Distribución alélica del SNP XRCC1 en los enfermos con HTA siguiendo el modelo recesivo.

Distribución alélica SNP XRCC1 e HTA modelo recesivo/Tabulación cruzada					
			HTA		Total
			Sí	No	
XRCC1TT	TT	Recuento	4	3	7
		% dentro de XRCC1TT	57,1%	42,9%	100,0%
	CT+CC	Recuento	203	85	288
		% dentro de XRCC1TT	70,5%	29,5%	100,0%
Total		Recuento	207	88	295
		% dentro de XRCC1TT	70,2%	29,8%	100,0%

5.3.7. SNP XPD/ERCC2 rs13181 Y OBESIDAD.

La asociación es altamente significativa ($p=0,006$).

Tabla 78: Distribución de genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la obesidad.

Distribución de genotipos SNP XPD y obesidad/Tabulación cruzada					
			Obesidad		Total
			Sí	No	
Polimorfismo XPD	GG	Recuento	4	34	38
		% dentro de Polimorfismo XPD	10,5%	89,5%	100,0%
	GT	Recuento	13	116	129
		% dentro de Polimorfismo XPD	10,1%	89,9%	100,0%
	TT	Recuento	31	97	128
		% dentro de Polimorfismo XPD	24,2%	75,8%	100,0%
Total		Recuento	48	247	295
		% dentro de Polimorfismo XPD	16,3%	83,7%	100,0%

En el estudio de distribuciones genotípica las asociaciones no son significativas (Tablas 78 y 79).

Tabla 79: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la obesidad.

Distribución de genotipos SNP XPD y obesidad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XPD	,007			
	XPD(1)	,936	1,050	,321	3,430
	XPD(2)	,078	,368	,121	1,119
	Constante	,000	8,500		

Al ajustar por sexo y edad las odds-ratios no varían de forma significativa (Tabla 80).

Tabla 80: Odds entre el SNP de XPD/ERCC2 y la obesidad ajustados por sexo y edad.

Distribución de genotipos SNP XPD y obesidad ajustados por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XPD	,007			
	XPD(1)	,936	1,050	,321	3,430
	XPD(2)	,078	,368	,121	1,119
	Constante	,000	8,500		

En el estudio alélico, la asociación es significativa ($p=0,0038$). La odds-ratio es de 0,5 (IC 95%: 0,3-0,8) (Tabla 81).

Tabla 81: Distribución alélica del SNP XPD/ERCC2 en enfermos obesos.

Alelos	Si	No
G	21	184
T	75	310
Alelos	Si	No
G	10,24	89,76
T	19,48	80,52

En el estudio del alelo dominante, la asociación es altamente significativa ($p=0,001$). La odds-ratio es 2,8 (IC 95%: 1,5-5,4) (Tabla 82).

Tabla 82: Distribución alélica del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos obesos siguiendo el modelo dominante.

Distribución alélica SNP XPD y obesidad modelo dominante					
			Obesidad		Total
			Sí	No	
XPDTT	TT	Recuento	31	97	128
		% dentro de XPDTT	24,2%	75,8%	100,0%
	TG+GG	Recuento	17	150	167
		% dentro de XPDTT	10,2%	89,8%	100,0%
Total		Recuento	48	247	295
		% dentro de XPDTT	16,3%	83,7%	100,0%

En el estudio del alelo recesivo, la asociación no es significativa ($p=0,304$). La odds-ratio es 0,6 (IC 95%: 0,2-1,7) (Tabla 83).

Tabla 83: Distribución alélica del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos obesos, modelo recesivo.

Distribución alélica SNP XPD y obesidad modelo recesivo					
			Obesidad		Total
			Sí	No	
XPDGG	GG	Recuento	4	34	38
		% dentro de XPDGG	10,5%	89,5%	100,0%
	TG+TT	Recuento	44	213	257
		% dentro de XPDGG	17,1%	82,9%	100,0%
Total		Recuento	48	247	295
		% dentro de XPDGG	16,3%	83,7%	100,0%

5.3.8. SNP XPD/ERCC2 rs13181 Y DEPRESIÓN.

La asociación es significativa ($p=0,044$).

Tabla 84: Distribución de genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la depresión.

Distribución de genotipos SNP XPD y depresión/Tabulación cruzada					
			Depresión		Total
			Sí	No	
Polimorfismo XPD	GG	Recuento	3	35	38
		% dentro de Polimorfismo XPD	7,9%	92,1%	100,0%
	TG	Recuento	22	107	129
		% dentro de Polimorfismo XPD	17,1%	82,9%	100,0%
	TT	Recuento	32	96	128
		% dentro de Polimorfismo XPD	25,0%	75,0%	100,0%
Total	Recuento	57	238	295	
	% dentro de Polimorfismo XPD	19,3%	80,7%	100,0%	

En el estudio de distribución genotípica, no se encontró asociación significativa, al ajustar por edad y sexo no se observaron cambios importantes (Tablas 84 y 85).

Tabla 85: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la depresión.

Distribución de genotipos SNP XPD y depresión					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XPD	,054			
	XPD(1)	,175	,417	,118	1,477
	XPD(2)	,033	,257	,074	,893
	Constante	,000	11,667		

En la distribución alélica, la asociación es significativa ($p=0,011$). La odds-ratio es de 0,6 (IC 95%: 0,4-0,9) (Tabla 86).

Tabla 86: Distribución alélica del SNP XPD/ERCC2 en enfermos depresión.

Alelos	Si	No
G	28	177
T	86	299
Alelos	Si	No
G	13,66	86,34
T	22,34	77,66

En el estudio alélico, modelo dominante, la asociación es altamente significativa (p -valor=0,031). La odds-ratio es 1,9 (IC 95%: 1,1-3,4) (Tabla 87).

Tabla 87: Distribución alélica del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con depresión, modelo dominante.

Distribución alélica SNP XPD y obesidad/modelo dominante					
			Depresión		Total
			Sí	No	
XPD TT	TT	Recuento	32	96	128
		% dentro de XPD TT	25,0%	75,0%	100,0%
	TG+GG	Recuento	25	142	167
		% dentro de XPD TT	15,0%	85,0%	100,0%
Total		Recuento	57	238	295
		% dentro de XPD TT	19,3%	80,7%	100,0%

En estudio de distribuciones alélicas siguiendo el modelo recesivo, la asociación no es significativa ($p=0,076$). La odds-ratio es 0,3 (IC 95%: 0,1-1,1) (Tabla 88).

Tabla 88: Distribución alélica del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con depresión, modelo recesivo.

Distribución alélica SNP XPD y obesidad/modelo recesivo					
					Total
			Sí	No	
XPD GG	GG	Recuento	3	35	38
		% dentro de XPD GG	7,9%	92,1%	100,0%
	GT+TT	Recuento	54	203	257
		% dentro de XPD GG	21,0%	79,0%	100,0%
Total		Recuento	57	238	295
		% dentro de XPD GG	19,3%	80,7%	100,0%

5.3.9. SNP XPD/ERCC2 rs13181 E INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA GRAVE.

Encontramos una asociación significativa entre ambas $p=0,007$

Tabla 89: Distribución de genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la insuficiencia renal crónica significativa.

Genotipos SNP XPD e IRC/Tabulación cruzada					
			Insuficiencia renal crónica grave		Total
			Sí	No	
Polimorfismo XPD	GG	Recuento	4	34	38
		% dentro de Polimorfismo XPD	10,5%	89,5%	100,0%
	GT	Recuento	4	125	129
		% dentro de Polimorfismo XPD	3,1%	96,9%	100,0%
	TT	Recuento	17	111	128
		% dentro de Polimorfismo XPD	13,3%	86,7%	100,0%
Total	Recuento	25	270	295	
	% dentro de Polimorfismo XPD	8,5%	91,5%	100,0%	

En el estudio según la distribución genotípica no encontramos asociación significativa (Tablas 89 y 90).

Tabla 90: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la insuficiencia renal crónica significativa.

Distribución de genotipos SNP XPD e IRC					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XPD	,023			
	XPD(1)	,076	3,676	,874	15,468
	XPD(2)	,654	,768	,242	2,438
	Constante	,000	8,500		

Tampoco se encontró asociación significativa tras ajustar por edad y sexo (Tabla 91).

Tabla 91: Odds de los diferentes genotipos del SNP de XPD/ERCC2 en relación con la insuficiencia renal crónica significativa ajustados por edad y por sexo.

Distribución de genotipos SNP XPD e IRC ajustados por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	XPD XPD(1)	.019			
	XPD(2)	.076	3,677	.872	15,507
	Sexo(1) Edad	.598	.731	.229	2,339
	Constante	.701	.846	.362	1,982
		.381	.973	.915	1,035
		.102	98,074		

En el estudio de distribución alélica, la asociación es significativa ($p=0,02$). La odds-ratio es de 0,7 (IC 95%: 0,5-0,9) (Tabla 92).

Tabla 92: Distribución alélica del SNP XPD/ERCC2 en enfermos con IRC significativa.

Alelos	Si	No
G	12	193
T	38	347
Alelos	Si	No
G	5.85	94.15
T	9.87	90.13

En el estudio alélico siguiendo el modelo dominante, la asociación es altamente significativa ($p=0,009$). La odds-ratio es 3,0 (IC 95%: 1,3-7,3) (Tabla 93).

Tabla 93: Distribución de los alelos del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con insuficiencia renal significativa siguiendo el modelo dominante.

Distribución alélica SNP XPD e IRC grave modelo dominante					
			Insuficiencia renal crónica grave		Total
			Sí	No	
XPDTT	TT	Recuento	17	111	128
		% dentro de XPDTT	13,3%	86,7%	100,0%
	GT+GG	Recuento	8	159	167
		% dentro de XPDTT	4,8%	95,2%	100,0%
Total	Recuento	25	270	295	
	% dentro de XPDTT	8,5%	91,5%	100,0%	

En el estudio según el modelo recesivo, la asociación no es significativa ($p=0,544$). La odds-ratio es 1,3 (IC 95%: 0,4-4,1) (Tabla 94).

Tabla 94: Distribución de los alelos del SNP XPD/ERRC2 en los enfermos con insuficiencia renal significativa siguiendo el modelo recesivo.

Distribución alélica SNP XPD e IRC grave modelo recesivo					
			Insuficiencia renal crónica grave		Total
			Sí	No	
XPDGG	GG	Recuento	4	34	38
		% dentro de XPDGG	10,5%	89,5%	100,0%
	GT+TT	Recuento	21	236	257
		% dentro de XPDGG	8,2%	91,8%	100,0%
Total	Recuento		25	270	295
	% dentro de XPDGG		8,5%	91,5%	100,0%

5.3.10. SNP TP53 rs1042522 Y AFECTACIÓN METASTÁSICA POR TUMORES SÓLIDOS.

Encontramos una asociación significativa entre ambos, $p=0,022$

Tabla 95: Distribución de genotipos del SNP de p53 en relación con la neoplasia metastásica.

Genotipos SNP p53 y neoplasia sólida metastásica/Tabulación cruzada					
			Tumor o neoplasia sólida con metástasis		Total
			Sí	No	
Polimorfismo p53	CC	Recuento	1	167	168
		% dentro de Polimorfismo p53	0,6%	99,4%	100,0%
	GC	Recuento	3	98	101
		% dentro de Polimorfismo p53	3,0%	97,0%	100,0%
	GG	Recuento	2	24	26
		% dentro de Polimorfismo p53	7,7%	92,3%	100,0%
Total	Recuento		6	289	295
	% dentro de Polimorfismo p53		2,0%	98,0%	100,0%

La odds-ratio de CC frente a GG es significativa (Tablas 95 y 96).

Tabla 96: Odds de los diferentes genotipos del SNP de P53 en relación con la neoplasia metastásica.

Distribución genotípica SNP p53 y neoplasia sólida metastásica					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	P53	,106			
	P53(1)	,160	,196	,020	1,906
	P53(2)	,034	,072	,006	,823
	Constante	,000	167,000		

Si ajustamos por edad y género no hay grandes modificaciones en las odds-ratios (Tabla 97).

Tabla 97: Odds de los diferentes genotipos del SNP de P53 en relación con la neoplasia metastásica ajustados por sexo y edad.

Distribución genotípica SNP p53 y neoplasia sólida metastásica tras ajustar por sexo y edad					
		Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1 ^a	P53	,039			
	P53(1)	,157	,191	,019	1,892
	P53(2)	,012	,037	,003	,479
	Sexo(1)	,995	,000	,000	.
	Edad	,927	,995	,890	1,112
	Constante	,994	11650779939,268		

La distribución de los diferentes alelos fue la siguiente: la asociación es significativa ($p=0,01$). La odds-ratio es 0,2 (IC 95% 0,1-0,8) para el alelo G frente C (Tabla 98).

Tabla 98: Distribución alélica del SNP P53 en enfermos con neoplasia metastásica.

Alelos	Si	No
C	5	432
G	7	146
Alelos	Si	No
C	1,14	98,86
G	4,58	95,42

En el estudio asociativo del alelo dominante la asociación es no significativa (p-valor=0,09). La odds-ratio es 5,5 (IC: 1,0-31,7) (Tabla 99).

Tabla 99: Distribución de los alelos del SNP P53 en los enfermos con neoplasia metastásica, modelo dominante.

Distribución alélica SNP pT53 y neoplasia sólida metastásica modelo dominante/Tabulación cruzada					
			Tumor o neoplasia sólida con metástasis		Total
			Sí	No	
P53GG	GG	Recuento	2	24	26
		% dentro de P53GG	7,7%	92,3%	100,0%
	CG+CC	Recuento	4	265	269
		% dentro de P53GG	1,5%	98,5%	100,0%
Total		Recuento	6	289	295
		% dentro de P53GG	2,0%	98,0%	100,0%

En el estudio del alelo recesivo, la asociación es no significativa (p-valor=0,09). La odds-ratio es 0,71 (IC 95% 0,02-1,3) (Tabla 100).

Tabla 100: Distribución de los alelos del SNP P53 en los enfermos con neoplasia metastásica, modelo recesivo.

Distribución alélica SNP pT53 y neoplasia sólida metastásica modelo recesivo/Tabulación cruzada					
			Tumor o neoplasia sólida con metástasis		Total
			Sí	No	
P53CC	CC	Recuento	1	167	168
		% dentro de P53CC	0,6%	99,4%	100,0%
	GC+GG	Recuento	5	122	127
		% dentro de P53CC	3,9%	96,1%	100,0%
Total		Recuento	6	289	295
		% dentro de P53CC	2,0%	98,0%	100,0%

Intentamos valorar la asociación entre el deterioro cognitivo documentado a través de la escala de Pfeiffer con el SNP de p53 rs1042522, no encontrándose asociación entre ambos independientemente de las varios análisis estadísticos realizados: ni considerándola numérica, ni haciendo un contraste no paramétrico como Kruskal-Wallis, ni haciendo una tabla de contingencia, ni modelizando la tabla de contingencia como un modelo logístico multinomial.

5.4. COMPARACIÓN EN LA DISTRIBUCIÓN DE POLIMORFISMOS ENTRE NUESTRA POBLACIÓN Y POBLACIÓN JOVEN.

No encontramos asociación significativa en la distribución de los polimorfismos estudiados en nuestra población en relación con otra población control más joven.

A continuación exponemos los resultados obtenidos para cada uno de ellos:

El estudio del SNP del gen ATG16L1 rs2241880, no mostró asociación entre los genotipos y los grupos, p -valor=0,725 (Tabla 101).

Tabla 101: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG16L1 rs2241880 entre nuestra población y un grupo control joven.

Comparativa de la distribución del SNP ATG16L1 entre nuestra población y un grupo control joven					
			grupo		Total
			casos	controles	
Polimorfismo ATG16L1	TT	Recuento	69	63	132
		% dentro de Polimorfismo AT916L1	52,3%	47,7%	100,0%
	TC	Recuento	147	138	285
		% dentro de Polimorfismo AT916L1	51,6%	48,4%	100,0%
	CC	Recuento	79	63	142
		% dentro de Polimorfismo AT916L1	55,6%	44,4%	100,0%
Total		Recuento	295	264	559
		% dentro de Polimorfismo AT916L1	52,8%	47,2%	100,0%

El estudio del SNP del gen ATG2B rs3759601, no mostró asociación entre los genotipos y los grupos, p-valor=0,328 (Tabla 102).

Tabla 102: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG2B rs3759601 entre nuestra población y un grupo control joven.

Comparativa de la distribución del SNP ATG2B entre nuestra población y un grupo control joven					
			grupo		Total
			casos	controles	
Polimorfismo ATG2B	CC	Recuento	34	38	72
		% dentro de Polimorfismo ATG2B	47,2%	52,8%	100,0%
	CG	Recuento	129	123	252
		% dentro de Polimorfismo ATG2B	51,2%	48,8%	100,0%
	GG	Recuento	132	103	235
		% dentro de Polimorfismo ATG2B	56,2%	43,8%	100,0%
Total		Recuento	295	264	559
		% dentro de Polimorfismo ATG2B	52,8%	47,2%	100,0%

El estudio del SNP del gen ATG5, no mostró asociación entre los genotipos y los grupos, p-valor=0,864 (Tabla 103).

Tabla 103: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG5 rs2245214 entre nuestra población y un grupo control joven.

Comparativa de la distribución del SNP ATG5 entre nuestra población y un grupo control joven					
			grupo		Total
			casos	controles	
Polimorfismo ATG5	CC	Recuento	112	106	218
		% dentro de Polimorfismo ATG5	51,4%	48,6%	100,0%
	CG	Recuento	148	127	275
		% dentro de Polimorfismo ATG5	53,8%	46,2%	100,0%
	GG	Recuento	35	31	66
		% dentro de Polimorfismo ATG5	53,0%	47,0%	100,0%
Total		Recuento	295	264	559
		% dentro de Polimorfismo ATG5	52,8%	47,2%	100,0%

El estudio del SNP del gen ATG10 rs1864183, no mostró asociación entre los genotipos y los grupos, p-valor=0,214 (Tabla 104).

Tabla 104: Resultados comparativos de la distribución del SNP ATG10 rs1864183 entre nuestra población y un grupo control joven.

Comparativa de la distribución del SNP ATG10 entre nuestra población y un grupo control joven					
			grupo		Total
			casos	controles	
Polimorfismo ATG10	CC	Recuento	91	68	159
		% dentro de Polimorfismo ATG10	57,2%	42,8%	100,0%
	CT	Recuento	147	151	298
		% dentro de Polimorfismo ATG10	49,3%	50,7%	100,0%
	TT	Recuento	57	45	102
		% dentro de Polimorfismo ATG10	55,9%	44,1%	100,0%
Total		Recuento	295	264	559
		% dentro de Polimorfismo ATG10	52,8%	47,2%	100,0%

DÍSCUSIÓN

6. DISCUSIÓN

6.1. FENOTIPOS DE ENVEJECIMIENTO.

Inicialmente intentamos agrupar a la población anciana hospitalizada incluida en nuestro estudio a través de los diferentes fenotipos clínicos de envejecimiento, encontrando un número muy bajo de pacientes que cumplieran los criterios establecidos. Solamente tres sujetos cumplían los criterios de enfermos con envejecimiento saludable (1% de la muestra), lo que da idea de las características de nuestra población. La hospitalización, como era de prever, se comporta como un sesgo de primera magnitud y los enfermos incluidos en el estudio presentaban abundante número de enfermedades concomitantes, polimedicación, así como una limitación funcional nada despreciable.

Dado que nuestro trabajo se centra en el estudio de la distribución de polimorfismos en una población anciana, nos pareció interesante valorar la relación de dichas variantes genéticas con fenotipos de envejecimiento satisfactorio, por lo que intentamos acuñar un fenotipo con dichas características, como podrían ser los "comórbidos sanos", que vendría definido por el buen desarrollo funcional a pesar de que la coexistencia de varias comorbilidades; concretamente, aquellos que presentaban una puntuación en la escala de Charlson > 4, con Katz, Lawton y Pfeiffer de 1 punto. El número de enfermos que cumplían dichas características fue escaso, 18 pacientes, lo que equivale al 6.1% del total.

El escaso número de enfermos con fenotipos de envejecimiento satisfactorio debido al sesgo de selección de la cohorte al estar constituida por pacientes que requirieron ingreso hospitalario, limitó sobremanera la posibilidad de cualquier asociación significativa.

La mayor parte de los enfermos de nuestra muestra cumplían criterios de fragilidad según el Fenotipo de Fried,¹² definición que utilizamos para caracterizar a los enfermos como robustos o frágiles. Prácticamente todos los estudios que se han desarrollado en este ámbito, se han realizado con ancianos residentes en la comunidad, de ahí la diferencia significativa en la altísima prevalencia obtenida en nuestra muestra: 162 pacientes del total (55%) presentaban criterios de fragilidad, lo que contrasta con las prevalencias habituales, que oscilan desde el 7% referido en el CHS,¹² al 11.3% del "Women's Health and Aging Population".³⁶ Dicha prevalencia se incrementa con la edad, siendo esta, de hasta el 30% de la población mayor de 90 años,³⁷ pero siempre muy inferior a los datos obtenidos en nuestro trabajo. De nuevo, el sesgo en la selección de la cohorte explica estas diferencias.

Por análisis previos sabemos que ciertas características de los enfermos frágiles de nuestra población difieren sobremanera con los estudios realizados sobre población ambulatoria; por ejemplo, un estudio reciente desarrollado sobre población británica, ha relacionado diferentes factores de riesgo cardiovascular como la obesidad, el perímetro de cintura, la IRC, bajos niveles de HDL-col y la HTA con la fragilidad;⁴²⁹ sin embargo, en nuestro estudio no encontramos asociación con dichos factores.

Entre las posibles bases genéticas con un papel fisiopatológico plausible en el desarrollo de fragilidad, se han descrito variantes en genes que codifican proteínas asociadas con senectud celular, acortamiento telomérico, disfunción mitocondrial, incremento en la producción de radicales libres y alteraciones en la capacidad reparativa del DNA.²⁶

La generación de radicales libres puede resultar tóxica para algunos elementos celulares, principalmente para el DNA genómico,⁵⁸ por lo que se piensa que los genes reparadores del DNA podría jugar un papel primordial en la fragilidad. Así, raros síndromes de envejecimiento prematuro, relacionados con alteraciones en los defectos de la reparación del DNA (síndrome de Werner), o con anomalías en el tamaño de los telómeros (disqueratosis congénita) podrían favorecer el desarrollo de potenciales modelos de estudios genéticos en el área de la fragilidad.²⁶

A pesar de la posibilidad de una relación entre la fragilidad y algunos de los SNP incluidos en nuestro trabajo, no hemos encontrado una asociación significativa entre ninguno de los polimorfismos estudiados y la fragilidad.

Se sabe que la fragilidad es un factor de riesgo para el desarrollo de dependencia y que las comorbilidades tienen un peso importante en el desarrollo de la misma, tratándose de tres entidades diferenciadas aunque imbricadas entre sí.¹² A este respecto, el peso de las comorbilidades y, sobre todo, de la mala funcionalidad, tiene excesiva relevancia en nuestros enfermos frágiles. Al objeto de intentar limitar dicho sesgo, acuñamos el término *fragilidad sana/verdaderos frágiles/susceptibles de intervención*, ya que en dichos enfermos el tratamiento activo de la fragilidad se ha asociado a buena evolución prospectiva tras una situación de estrés, minimizando el riesgo posterior de pérdida de funcionalidad; considerando que dichos enfermos se asemejarían más a los incluidos en los estudios clásicos de fragilidad. Una vez más, el número de enfermos que cumplían dicho criterio: enfermos con criterios de fragilidad, que presentaban un buen nivel de independencia (Katz 1 punto, Lawton 1 punto) y buen nivel cognitivo (Pfeiffer 1 punto), fue extremadamente bajo, en total 4 enfermos (1.4%) de la muestra, lo que limita los resultados obtenidos. Como era de esperar, debido a tan bajo tamaño muestral, no encontramos asociación significativa entre los SNPs estudiados y dicho fenotipo.

Por último, estudiamos a los enfermos con fenotipo "failure to thrive", término del que existe un concepto bien establecido: se trata de enfermos con graves limitaciones físicas y funcionales, al final de la vida, que no pueden responder adecuadamente a los retos que esta le plantea,¹⁰⁰ pero cuya definición estricta incluye una serie de términos más o menos restrictivos. En nuestro caso lo definimos como: enfermos con pérdida de peso (4º punto de la valoración antropométrica -1 punto) o bien datos de desnutrición (valoración nutricional global 3 puntos-desnutrido), dependientes (Katz 3 puntos, Lawton 3 puntos), mal estado de ánimo/percepción subjetiva del estado de ánimo (1 punto), bajo nivel de colesterol (colesterol total <160), valorando así mismo el nivel cognitivo (enfermos con deterioro cognitivo o no, según el cuestionario de Pfeiffer) y el número de comorbilidades posteriormente. Al incluir un número de variables tan elevado para definir este fenotipo, no encontramos ningún enfermo que cumpliera estos criterios, aunque la impresión subjetiva es que muchos de nuestros enfermos se encontraban en una situación de declinar físico, próximos al final de la vida.

El limitar el número de variables, hubiera ayudado para poder caracterizar a un mayor número de enfermos dentro de dicho fenotipo; en todo caso, en un estudio de base genética, desde el punto de vista teórico, se hace difícil relacionar dicho fenotipo con la misma, ya que lo integran un número significativo de variables de diferente índole (médico, cognitivo, funcional) por lo que decidimos no modificar los criterios.

Existen escalas validadas que han acotado el pronóstico vital en enfermos ancianos pluripatológicos tanto ingresados como en el ámbito comunitario que facilitan la toma de decisiones clínicas que puedan asociarse a un innecesario incremento del riesgo vital o del coste sanitario. Desde la escala inicial de Charlson, desarrollada en el año 87 y recogida en nuestro

estudio, que calibra, entre otros, la posibilidad de supervivencia a los 10 años,⁴³⁰ pasando por la escala desarrollada por Walter en población anciana que valora el beneficio de cribado oncológico,¹²⁵ o por la escala de Levine del año 2007, que valora la mortalidad al año tras el alta hospitalaria,⁴³¹ hasta llegar a una de las más actuales, precisamente desarrollada en nuestro entorno y que entre otros factores, nuevamente valora el riesgo de mortandad a un año tras el alta hospitalaria.⁴³² La aplicación de dichas escalas ayuda en la toma de decisiones y en la limitación de cuidados, buscando el beneficio sintomático de una población en situación de final de la vida.

Nuestro estudio muestra una población heterogénea y compleja, y nos aporta una información valiosa sobre la distribución/características de los enfermos ingresados en nuestro servicio y quizás extrapolable, con ciertos matices, al resto de servicios de Medicina Interna de nuestro ámbito, ya que nuestro servicio se encuentra aislado de otros muchos servicios médicos y quirúrgicos, no existiendo una unidad de tratamiento intensivo inmediata, lo que hace que los enfermos ingresados en el mismo sean enfermos que por condiciones clínicas, por edad, o características basales, no son subsidiarios de ese soporte, condicionando así, un sesgo en los criterios de ingreso.

Los estudios de ámbito genético, se caracterizan por una selección de pacientes que permita definir diferentes fenotipos de envejecimiento de acuerdo con diferentes características clínicas, y suelen incluir enfermos con una situación ambiental similar, disponiendo así mismo de un grupo control de un tamaño similar. La población recogida en nuestro trabajo no fue seleccionada, siendo el único criterio para inclusión en el estudio la edad superior a 65 años y el hecho de haber sido hospitalizado. Esta falta de selección limita los resultados presumibles y los obtenidos; no obstante, da una información valiosa sobre las características generales de los enfermos que atendemos a diario.

6.2. AUTOFAGIA Y CATARATA.

En nuestro estudio hemos encontrado una asociación significativa entre el SNP del gen ATG16L1 rs2241880 y la presencia de cataratas, $p=0,018$. En los enfermos con catarata, la presencia del genotipo TT del SNP ATG16L1 rs2241880, se asocia a una odds de 3,4 (IC 95%: 1,4-8,3).

El cristalino constituye una lente avascular y transparente que trasmite luz a la retina compuesta de células epiteliales y fibrilares.⁴³³ Durante el desarrollo inicial del mismo, las células de la parte anterior se diferencian en células epiteliales y las posteriores en fibrilares.⁴³⁴ Posteriormente, las células epiteliales proliferan y se diferencian en células fibrilares secundarias, que se localizan superiormente a las células fibrilares originales; este proceso de diferenciación lleva consigo elongación celular, síntesis de proteínas y degradación programada de todas las organelas intracelulares unidas a la membrana. La alteración en dicho proceso o el daño celular puede favorecer la formación de catarata.⁴³⁵

En la génesis de la catarata se han involucrado múltiples mecanismos como la lipooxigenasa 12/15,⁴³⁶ el sistema ubiquitin-proteosoma,⁴³⁷ o CDK1 (cyclin-dependent kinase 1).⁴³⁸ Hace años se demostró la presencia de autolisosomas en las células del cristalino de ratones y pollos.^{439,440} Un estudio posterior usando ratones transgénicos GFP/LC3 (Green fluorescent protein/microtubule-associated protein light chain 3), que codifican un marcador de específico del autofagosoma, demostró la presencia del mismo en las células epiteliales del cristalino.⁴⁴¹ Así mismo, se han detectado autofagosomas en células fibrilares primarias,⁴⁴² y en células fibrilares secundarias, pero no en aquellas fibrilares diferenciadas carentes de organelas⁴⁴³, lo que da un idea de la importancia de la autofagia para las células epiteliales y para el proceso de diferenciación de las fibrilares. Trabajos posteriores han demostrado la presencia de autofagosomas que contiene citosol y mitocondrias en células epiteliales y fibrilares de diferentes especies mediante el uso de microscopía electrónica de transmisión.^{444,445}

El mecanismo por el cual las células fibrilares primarias y secundarias eliminan productos intracelulares todavía no está totalmente establecido. A través de estudios en especies inferiores, se ha establecido que la degradación del DNA nuclear de las células fibrilares del cristalino se realiza a través de una DNAasa II like (DLAD/DNAasa 2b),⁴⁴⁶ habiéndose observado en estudios con ratones carentes de dicha enzima un aumento de la incidencia de catarata nuclear. En otras especies inferiores como el pez cebra, la degradación del DNA nuclear depende de otra DNAasa diferente a DLAD, en este caso DNAasa 113I.⁴⁴⁷ Una vez que LDAD constituye una enzima lisosómica y que la autofagia se encuentra constitutivamente activada en el cristalino, se piensa que esta podría verse implicada en estos procesos. Sin embargo, estudios realizados con ratones carentes de ATG5, han demostrado que la autofagia no es indispensable para la correcta eliminación de proteínas y organelas intracelulares por parte de las células fibrilares secundarias del cristalino tanto en neonatos como en adultos.⁴⁴³

Otros estudios han demostrado que defectos en vías alternativas de la autofagia, en las que participa Pik3c3 (class III phosphatidylinositol 3-kinase), también conocido como Vps34, tampoco se relacionan con una alteración en la eliminación de estos agregados intracelulares por parte de las células fibrilares secundarias del cristalino.⁴⁴³ Lo mismo ocurrió en modelos de ratones transgénicos carentes de FIP200 (un factor esencial para la inducción de la autofagia tanto a través de la vía clásica como alternativa).⁴⁴⁸

Recientemente se ha observado que la inhibición química de MAPK/JNK (C-Jun N terminal-kinase) y mTORC1, puede estimular la pérdida prematura de organelas a través de un sobrerregulación forzada de la autofagia en sistemas de cultivo in vitro con cristalinos embrionarios de pollo.⁴⁴⁹ Este estudio ha observado que JNK y mTORC1 se encuentran suprimidos durante la degradación de las organelas.

Se ha sugerido que un defecto de la autofagia se relaciona con el desarrollo de catarata en un modelo de ratón mutante R120G.⁴⁴⁴ En dicho modelo se ha observado un incremento de la agregación de $\alpha\beta$ -cristalino, la formación de opacidades cristalinas con la edad,⁴⁵⁰ y un aumento en el número y en el tamaño de los autofagosomas, que muestran agregados ricos en proteína p62 a nivel de las células epiteliales y fibrilares, lo que sugiere el bloqueo de la autofagia en un estadio tardío a nivel los cristalinos mutantes. Se han observado defectos similares de la autofagia en modelos de ratones con la mutación R49C.⁴⁵¹

La importancia de la autofagia en la prevención de catarata se ha observado en estudios de cristalinos de ratones carentes de ATG5.⁴⁴³ Estos cristalinos son transparentes hasta los 5 meses de edad; entre el sexto y el noveno mes, se comienzan a observar opacidades en la región cortical, para, finalmente, en torno al vigésimo primer mes de vida, evidenciarse una afectación cortical severa y, en ocasiones, catarata bilateral total. En estos animales se ha observado un acúmulo de material anormal en las células fibrilares diferenciadas de la región cortical y, en ocasiones, en la región central, así como proteína p62 insoluble, proteínas poliubiquitinizadas y oxidadas.⁴⁵² Finalmente, a partir del vigésimo segundo mes, todos los β y γ cristalinos son insolubles.

Se piensa que la autofagia podría tener importancia en el control de otros mecanismos citoprotectores para el cristalino. Es posible que el recambio mitocondrial llevado a cabo por la autofagia (mitofagia) resulte de suma importancia para proteger las células del cristalino del estrés oxidativo, que es uno de los principales mecanismos relacionados con la formación de catarata senil.⁴³⁵ De hecho, se ha documentado la expresión de Parkin, una ligasa E3 ubiquitina relacionada con la enfermedad de Parkinson, en células epiteliales y fibrilares.⁴⁵³

En modelos de cristalinos carentes de la proteína Pick3c3⁴⁴³ se ha observado acumulación de proteínas poliubiquitinizadas y p62, lo que sugiere un defecto en la vía endocítica mediada por la autofagia; así mismo, las células fibrilares secundarias muestran elongación celular y defectos en la expresión.

La importancia de la autofagia en el desarrollo de cataratas en humanos viene refrendada por diferentes evidencias. Se sabe que mutaciones del gen FYCO1 (FYVE and coiled-coil domain containing 1) se han asociado con riesgo a desarrollar cataratas congénitas con un patrón autosómico recesivo.⁴⁵⁴ FYCO1 se expresa en células epiteliales y fibrilares de cristalinos humanos.⁴⁵⁵ La proteína codificada por dicho gen que se ha localizado en el lisosoma y el autofagosoma interaccionando con LC3, Rab7 y fosfatidilinositol 3 fosfato (PIP3) o mediando en la transferencia del autofagosoma a las células HeLa.⁴⁵⁶ Si bien no se ha aclarado si mutaciones en dicho gen pueden suprimir el flujo autofágico, se sabe que este gen es necesario para la formación del lisosoma,⁴⁵⁷ la maduración del fagosoma y, finalmente, la fusión del endosoma con la membrana plasmática.⁴⁵⁸

Mutaciones del gen CHMP4B, que codifica un proteína modificadora de la cromatina 4B, también se ha relacionado con el riesgo de catarata congénita autosómica dominante.⁴⁵⁹ Este es un componente del complejo ESCRT (endosomal sorting complex required for transport), el cual

resulta importante para el acortamiento endosomal, la citocinesis y la autofagia.⁴⁶⁰ De hecho, dicho gen es el responsable de la degradación, y la activación de EGFR (epidermal growth factor receptor)⁴⁶¹, la citocinesis⁴⁶² y el remodelado del revestimiento nuclear.⁴⁶³ Además, interactúa con la cromatina y localiza hacia el micronúcleo que está rodeado de lisosomas y autofagosomas en las células HeLa.⁴⁶⁴

La autofagia es un mecanismo de depuración celular que permite degradar proteínas viejas y renovar la estructura celular, por lo que puede desempeñar un papel central en el mantenimiento de la transparencia del cristalino. Nuestro trabajo describe por primera vez la asociación de un polimorfismo en un gen implicado en el proceso de formación del fagosoma y el desarrollo de cataratas.

Con las limitaciones de nuestro estudio incluyendo el hecho de que la asociación encontrada se pudiera relacionar exclusivamente por el azar, la asociación entre el SNP de ATG16L1 y la catarata podría abrir una puerta más en la implicación de la autofagia en la génesis de la catarata.

6.3. AUTOFAGIA Y ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR /RIESGO CARDIOVASCULAR.

En nuestro estudio, hemos encontrado una asociación significativa del SNP del gen ATG16L1 rs2241880 con la hemiplejía ($p=0,007$), el riesgo de presentar hemiplejía es 14,3 veces mayor en los portadores del genotipo CC que en los del genotipo TT y 4.2 veces mayor que en los del genotipo TC. En el estudio del modelo dominante, detectamos una asociación significativa ($p=0,005$) con un riesgo de 6,8 (IC 95% 1,7-27,1), es decir la posibilidad de hemiplejía es casi 7 veces mayor en los portadores del genotipo CC en relación con los portadores de los genotipos TC y TT.

Se sabe que la autofagia desempeña diferentes funciones a nivel cardiaco, retirando agregados proteicos y eliminando organelas dañadas dentro de los cardiomiocitos, ejerciendo un efecto protector durante la isquemia, aunque deletéreo en la reperfusión, modulando la hipertrofia ventricular e influyendo en el desarrollo de insuficiencia cardiaca en relación con la hipertrofia ventricular.⁴⁶⁵ Así mismo, la autofagia protege frente a una excesiva estimulación beta-adrenérgica. Un estudio con cardiomiocitos de ratón deficientes en ATG5 observó un aumento de la sensibilidad de los mismos con el uso de isoproterenol.⁴⁶⁶ De hecho, el tratamiento durante 7 días con dicho fármaco se asoció al desarrollo de dilatación ventricular e insuficiencia cardiaca en ratones con déficit de autofagia.

Si bien la aterosclerosis es una enfermedad común que lleva a la formación de placas intravasculares, estas no siempre desarrollan síntomas, aumentando el riesgo de eventos en aquellas que se comportan como inestables. Estas placas son ricas en lípidos, infiltrado inflamatorio y poseen una cubierta fibrosa fina pobre en células del músculo liso, constituyendo placas vulnerables que pueden precipitar un tromboembolismo local de forma súbita.

Estudios desarrollados en animales han evidenciado que la autofagia posee un papel protector en la aterosclerosis precoz.⁴⁶⁷

El papel de los macrófagos resulta de suma importancia en el desarrollo de inestabilidad en la placa de ateroma, su eliminación a nivel de dichas lesiones, unidos a los fallos en el

aclaramiento a ese nivel (eferocitosis), promueven la necrosis de la placa.⁴⁶⁸ Tanto el retículo endoplasmático como el estrés oxidativo juegan un papel primordial en la muerte macrofágica intralesional.⁴⁶⁹ En circunstancias en la que los macrófagos se encuentran expuestos a factores que favorecen la aterosclerosis como oxiteroles, fosfolípidos oxidados o colesterol libre no esterificado, se activa la respuesta del retículo endoplasmático mediada por la apoptosis.⁴⁶⁹

Estudios en modelos de ratones carentes del gen *Ldlr* han observado una depleción específica de la proteína ATG5 a nivel macrofágico acompañado de un aumento del tamaño de la placa arteriosclerótica y una expansión del cuerpo necrótico.⁴⁷⁰ Así mismo, los ratones carentes del gen *APOE*, muestran un incremento de la actividad del inflammasoma proaterogénico asociada a un defecto de la autofagia a nivel macrofágico.⁴⁷¹ También se ha observado que la autofagia colabora en la eliminación de las partículas lipídicas de los macrófagos, contribuyendo en el flujo de colesterol en las células espumosas macrofágicas.⁴⁷²

Por otra parte, la autofagia puede ser inducida por fármacos como el everolimus, un inhibidor de mTOR.⁴⁷³ Los "stents" farmacológicos de nueva generación recubiertos de dicho fármaco han evidenciado una disminución de la re-estenosis tras angioplastia;⁴⁷⁴ aunque, por otra parte, incrementan la producción de citoquinas habiendo demostrado efectos deletéreos sobre el perfil lipídico y glucémico.⁴⁷⁵

Un trabajo reciente ha demostrado la presencia de ATG16L1 en placas de ateroma de muestras de carótidas de humanos y ratones,⁴⁷⁶ pudiendo relacionarse con la desestabilización de la placa de ateroma en estadios iniciales y avanzados, ya que la expresión de dicha proteína era mayor en las placas de ateroma más vulnerables y, a su vez, se relacionaba con los niveles de citoquinas inflamatorias, quimoquinas y MMP (Metaloproteasas).

Estudios previos, que analizaron macrófagos de ratones deficientes en ATG16L1, han demostrado que la interacción de dicha proteína con Nod2, es un mecanismo clave para el control del proceso inflamatorio inducido por endotoxinas relacionado con la autofagia, a través de la translocación de protoquinas hacia el lisosoma.⁴⁷⁷

El alto contenido de mastocitos en las placas ateroscleróticas de las carótidas de enfermos endoarterectomizados se ha relacionado con un incremento del número de eventos en dichos enfermos.⁴⁷⁸ De hecho, se sabe que el número de mastocitos y su grado de activación se relaciona con la vulnerabilidad de la placa. Cuando se activan los mastocitos, producen y liberan una serie de mediadores químicos como heparina, histamina, proteasas, factores de crecimiento, citoquinas proinflamatorias, IL6, TNF α ..., regulando igualmente la activación de las células T.⁴⁷⁹ Un estudio realizado en ratones con mastocitos de médula ósea carentes del gen *ATG7*, demostró una relación estrecha entre la autofagia y la secreción de mediadores químicos,⁴⁸⁰ lo que podría relacionar nuevamente la autofagia con la vulnerabilidad de la placa de ateroma.

En nuestro estudio, no encontramos asociación entre la enfermedad cerebrovascular y el SNP del gen *ATG16L1*, $p=0,166$. En nuestra muestra hemos incluido a los enfermos por la presencia de hemiplejía tal y como se describe en la escala de Charlson, sin analizar el motivo de la misma. Es evidente que la mayoría de los enfermos hemipléjicos de nuestra muestra lo eran como secuela de un accidente cerebrovascular, y que este fue probablemente isquémico, una vez que la prevalencia de estos frente a los hemorrágicos es muy superior; por otra parte, la secuela neurológica en forma de hemiplejía en el caso de enfermedad cerebrovascular isquémica entraña el desarrollo de un ictus de tamaño considerable: afectación hemisférica, infarto total de la circulación anterior según la clasificación de Bamford (The Oxfordshire Community Stroke),⁴⁸¹

lo que suele equivaler a afectación de la arteria cerebral media. El mecanismo etiopatogénico subyacente en estos casos corresponde muchas veces más a ictus de perfil cardioembólico que aterotrombóticos, por lo que la presencia de patología predisponente, sobretodo presencia de fibrilación auricular, será un factor de primera magnitud. Con las limitaciones expuestas, es cada vez más notoria la importancia de la autofagia en el funcionamiento cardiaco y en el desarrollo de aterosclerosis. La relación de la autofagia como mecanismo protector frente al estímulo beta-adrenérgico podría disminuir el riesgo de entrada en fibrilación auricular, con la consecuente disminución del riesgo cardioembólico. Así mismo, se ha establecido que la autofagia desempeña un papel fundamental en la inestabilidad de la placa de ateroma, aumentando el riesgo de sufrir eventos tromboticos, por lo que quizás la asociación observada con nuestro SNP del gen ATG16L1 rs2241880 pueda tener cierto papel en el riesgo de sufrir eventos cerebrovasculares mayores y en consecuencia secuelas de hemiplejía.

El número de enfermos que cumplían dicho criterio es escaso, apenas 10 enfermos con las consecuentes limitaciones que entraña tan bajo tamaño muestral.

6.4. AUTOFAGIA Y ENFERMEDAD DE PARKINSON.

En nuestro estudio hemos encontrado una asociación significativa entre el SNP del gen ATG5 rs2245214 y la enfermedad de Parkinson. La presencia del alelo G de dicho SNP se asocia a un incremento de 4,2 veces del riesgo de desarrollar enfermedad de Parkinson, (OR: 4,2 (IC95%: 1,3-13,0)).

La enfermedad de Parkinson se caracteriza por la formación de cuerpos de inclusión, que contienen ubiquitina y α -sinucleína (cuerpos de Lewy), la distrofia de los terminales dopaminérgicos y la degeneración de las neuronas dopaminérgicas del cerebro medio (sustancia negra). Factores genéticos y ambientales se imbrican en el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, los mecanismos moleculares precisos que subyacen en su fisiopatología todavía no se han esclarecido completamente. Solo un 5% del total de los enfermos pertenecen a lo que se conoce como casos hereditarios.⁴⁸² En las variantes asociadas a enfermedad familiar se ha demostrado la implicación de genes que codifican la α -sinucleína, estando descritas mutaciones y amplificaciones del gen SCNA en dichos enfermos;⁴⁸³ sin embargo, se desconoce el mecanismo por el que la α -sinucleína contribuye a la pérdida de neuronas dopaminérgicas. En las formas esporádicas el peso de diferentes genes y el mecanismo molecular subyacente están todavía por definir totalmente. En los últimos años, esta ganando terreno la sospecha de que ciertos defectos en el catabolismo intracelular podría relacionarse con su patogénesis.

Los trastornos de la autofagia se han relacionado fisiopatológicamente con ciertas enfermedades neurodegenerativas; de hecho, existe una evidencia creciente que la macroautofagia y la autofagia mediada por chaperonas se relacionan con el aclaramiento de α -sinucleína.^{484,485}

En pacientes con enfermedad de Parkinson y en modelos de estudio de dicha enfermedad se ha observado una desregulación de la autofagia: estudios en líneas celulares PC12 y SH-SY5Y, que expresan α -sinucleína, han demostrado una inducción autofágica, con aumento de la formación de autofagosomas⁴⁸⁶; así mismo, se ha observado una inducción de la autofagia en el tejido cerebral de los enfermos con Parkinson,^{487,488} así como, una desregulación de la autofagia en dichos enfermos.⁴⁸⁹

Leucine-rich repeat kinase 2 (LRKK2) es otro de los genes asociados a la enfermedad de Parkinson; en estudios necróticos de cerebros de pacientes afectados se han encontrado cuerpos de inclusión formados por dicha proteína y por α -sinucleína.⁴⁹⁰ La mutación autosómica dominante de dicho gen, constituye la principal alteración genética responsable del parkinson familiar en España. Igualmente, ciertas mutaciones en dicho gen se han relacionado con formas esporádicas de enfermedad de Parkinson. Un estudio reciente ha constatado que la sobreexpresión de LRKK2 provoca una alteración en el aclaramiento de los sustratos proteosómicos,⁴⁹¹ lo que asocia a dicho gen con la regulación del catabolismo intracelular. Por otro lado, la expresión de LRKK2 en modelos de enfermedad de Parkinson produce anomalías en la autofagia.⁴⁹² Sin embargo, no está claro actualmente, como la modificación de la autofagia promueve una expresión anómala de LRKK2.

La pérdida de función de las proteínas Parkin (PARK2, Parkin RBR E3 ubiquitin protein ligasa y PINK1-PTEN-induced putative kinase 1), se han relacionado con casos de Parkinson autosómico recesivo.⁴⁹³ Una de las funciones principales de estas proteínas (PINK1), es el de conservar la integridad mitocondrial; al menos así se ha demostrado en especies inferiores,^{493,494} resultando esenciales en los procesos de fusión-fisión mitocondrial.⁴⁹⁴ Recientemente, se ha constatado que dichas proteínas resultan cruciales en el proceso de eliminación mitocondrial mediante la autofagia, en un mecanismo conocido como mitofagia,⁴⁹⁵ que, a su vez, podría resultar crucial en el desarrollo de enfermedad de Parkinson autosómica recesiva. Por otra parte, PINK1 podría relacionarse a través de otras vías con la macroautofagia, habiéndose demostrado que su sobreexpresión interactúa con Beclina -1 y ATG6 potenciando la autofagia basalmente y en situaciones de restricción calórica.⁴⁹⁶ Así mismo, G-protein-coupled receptor 37 (GPR37), un sustrato potencial de Parkin, se ha relacionado con la inducción de la macroautofagia.⁴⁹⁷

Varias evidencias epidemiológicas relacionan a los metales pesados en la etiología de la enfermedad de Parkinson.⁴⁹⁸ El cobre podría ser uno de ellos, existiendo resultados discordantes que relacionan ambas entidades: por un lado, algún estudio ha observado un incremento de los niveles de cobre sérico y en líquido cefalorraquídeo^{499,500} de estos enfermos, habiéndose detectado igualmente un aumento de enfermedad de Parkinson en personas expuesta ocupacionalmente a altos niveles de cobre.⁵⁰¹ Por el contrario, otros trabajos no han encontrado alteraciones en los niveles de cobre a nivel de la sustancia negra en estudios postmortem.⁵⁰² El cobre es un metal esencial para el sistema nervioso central, como metal de transición media en reacciones de oxidación-reducción y participa en la generación de especies de oxígeno reactivo, así como en el daño oxidativo. Debido a esto, evolutivamente, se han desarrollado varias proteínas fijadoras y transportadoras del cobre para facilitar los procesos enzimáticos dependientes del mismo, al objeto de mantener la homeostasis cúprica y minimizar sus efectos perniciosos.⁵⁰³ El desequilibrio en la homeostasis del cobre provoca profundas alteraciones en el funcionamiento neurológico, como queda reflejado por las dos principales enfermedades relacionadas con su metabolismo (Enfermedad de Menkes y de Wilson), en la segunda de ellas, la sobrecarga cúprica conlleva estrés oxidativo, neurodegeneración progresiva y parkinsonismo.⁵⁰⁴

Un estudio reciente ha demostrado que la sobreexpresión de α -sinucleína no tóxica puede aumentar la muerte de células dopaminérgicas inducida por el Cobre de forma independiente al estrés oxidativo o a la agregación de α -sinucleína. La toxicidad sinérgica entre el Cu y la α -sinucleína se relaciona con una alteración en la degradación proteica intracelular a través del sistema UPS (ubiquitin proteasome system)⁵⁰⁵ y, en menor medida, por la alteración de la autofagia relacionada con la sobreexpresión de ATG5.

Trabajos recientes conceden a la neuroinflamación un papel esencial en el desarrollo de enfermedad de Parkinson, habiéndose identificado vías patológicas que relacionan esta enfermedad con el acúmulo de α -sinucleína, el daño oxidativo y la disfunción mitocondrial entre otros.⁵⁰⁶ Se ha observado que la ausencia de ATG5 en fibroblastos embrionarios de ratón produce una activación de NF κ - β ,⁵⁰⁷ que es un mediador inflamatorio. Así mismo, ATG5 desempeña un papel esencial en el desarrollo de los linfocitos T y B, en la presentación antigénica, y en la inmunidad innata antiviral mediada por la autofagia,^{508,509} además de desarrollar funciones en la inmunidad celular de una manera dependiente del autofagosoma.⁵¹⁰

ATG5 resulta esencial en la formación del autofagosoma, la proteína codificada por dicho gen se une covalentemente con ATG12, y ambas, junto con ATG16, forman un complejo que resulta necesario para la conjugación de LC3.^{511,512} La importancia de dicho gen en la autofagia y de esta en la neurodegeneración, viene refrendada por diferentes estudios investigacionales: en uno ellos, se observó que todos los ratones deficientes en ATG5 mueren al poco de nacer, observándose una carencia de aminoácidos a nivel tisular y plasmático;⁵¹³ otro estudio observó que la deficiencia de dicho gen en las neuronas provoca un proceso de neurodegeneración con un acúmulo progresivo de cuerpos de inclusión;⁵¹⁴ así mismo, la pérdida de ATG5 en las células de purkinje, se asocia a edema axonal y neurodegeneración progresiva.⁵¹⁵ Por otra parte, la expresión inducida de ATG5 interfiere en la diferenciación neuronal,⁵¹⁶ habiéndose observado en embriones de ratones, que ATG5 modula la diferencia neuronal de las células madre y las células progenitoras.⁵¹⁷

La silenciación de ATG5 mediante siRNA (short interfering RNA) bloquea la autofagia, mientras que la sobreexpresión induce autofagia⁵¹⁸. El aumento de la proteína ATG5, puede alterar la actividad autofagia a través de la interferencia en la formación de complejos ATG5-ATG12-ATG16.

Un trabajo reciente, que secuenció diferentes variantes dentro del gen ATG5 en enfermos con enfermedad de Parkinson esporádica y en controles sin antecedentes personales ni familiares de esta enfermedad,⁵¹⁹ encontró una variante genética de dicho gen, en concreto 106774459T>A, que se asociaba a un aumento de la transcripción del gen ATG5, asociada a un aumento de la expresión del mismo en uno de los enfermos, lo que podría relacionar el desarrollo de enfermedad de Parkinson con una alteración asociada a dicho gen.

Un estudio en ratones que presentaban una delección de ATG7 en las neuronas dopaminérgicas, mostró que dicha alteración causaba un retraso y una pérdida moderada del soma dopaminérgico, precedido por una precoz y frecuente dilatación de los axones dopaminérgicos y de las células dendríticas.⁵²⁰ Así mismo, se observaba un acumulo de α -sinucleína y LRKK2 a nivel cerebral. Los hallazgos incluían el hecho de que estos ratones mostraban datos de lo que en los humanos conocemos como progresión clínica.

Por lo tanto, parece existir una relación evidente entre la autofagia y en particular el gen ATG5, y la enfermedad de Parkinson. Sin embargo, hasta la fecha no se había descrito ningún SNP de dicho gen asociado a esta entidad; nuestro estudio podría reforzar las observaciones de estudios previos y considerar polimorfismos de este gen como un factores de riesgo para el desarrollo de dicha enfermedad.

6.5. AUTOFAGIA Y DIABETES MELLITUS.

En nuestro estudio hemos encontrado asociación entre el SNP del gen ATG10 rs1864183 y la diabetes mellitus con repercusión de órgano diana ($p=0,035$), dicha asociación no se encontró con la diabetes de forma aislada ($p=0,734$). El genotipo CC de dicho SNP se comportaba como factor protector de desarrollo de la enfermedad frente a los heterocigóticos.

La diabetes mellitus tipo 2 constituye un modelo de enfermedad con herencia poligénica que dependen de la interacción entre varios genes y factores ambientales.⁵²¹ El peso de la genética en la diabetes tipo 2 viene refrendado por varias evidencias, entre las que destacan las siguientes: la prevalencia de diabetes tipo 2, varía de forma considerable entre diferentes etnias, observándose un incremento significativo entre afroamericanos, hispanos e indios americanos,^{522,523} hasta el 39% de los enfermos presentan un familiar afecto,⁵²⁴ observándose un solapamiento considerable en gemelos univitelinos.⁵²⁵

A nivel genético, se han identificado varios locus en diferentes genes, relacionados con alteraciones fisiopatológicas que se asocian con el desarrollo de diabetes, entre las que destacan:

Genes relacionados con el funcionamiento de la célula B pancreática y el desarrollo del páncreas: el más destacado es del gen transcription factor 7-like 2 gene (TCF7L2), que se ha identificado con marcador de riesgo considerable para el desarrollo de diabetes a través de estudios GWAS en diferentes poblaciones.⁵²¹ Trabajos similares de casos y controles realizados sobre diferentes poblaciones, han relacionado muchos otros locus en diferentes genes, como SLC30A8, HHEX/IDE, KCNJ11, NOTCH 2, JAZF1.^{521,526,527}

Genes relacionados con una disminución en la secreción de la insulina: entre otros, se han descrito dos SNPs, en concreto rs7903146 y rs12255372 del gen TCF7L2,⁵²⁸ y un polimorfismo a nivel del gen ADRA2A (alpha adrenergic receptor gene).⁵²⁹

En enfermos con diabetes tipo MODY2 (Maturity-onset diabetes of the young) se ha establecido como mecanismo causal mutaciones en el gen de la glucoquinasa situado en el cromosoma 7.⁵³⁰ En este caso, la glucoquinasa actúa como un sensor de los niveles de glucosa y no disminuye directamente los niveles de insulina, lo que hace es que hasta que la glucosa en sangre no alcanza determinado niveles no se activa la señal para la secreción de glucosa.

La diabetes MODY4 se asocia a mutaciones en el promotor factor 1 de la insulina (IPF-1/PDX-1),⁵³¹ que es un factor de transcripción de la célula beta pancreática.

Genes relacionados con la acción de la insulina/resistencia a la insulina: se ha identificado un SNP en el gen de la glucógeno sintetasa, en un subgrupo de pacientes con una fuerte historia familiar de diabetes, hipertensión e insulinoresistencia;⁵³² sin embargo, no se ha confirmado la relación entre diabetes tipo 2 y los polimorfismos de la región promotora o codificantes del gen glucógeno sintetasa.

Las otras formas de diabetes tipo MODY (MODY1, MODY3 y MODY5), se han relacionado con mutaciones en genes de factores nucleares hepatocitarios.^{533,534}

Otros genes relacionados con la susceptibilidad de diabetes mellitus tipo 2, son genes relacionados con sustratos del receptor de insulina (IRS-2),⁵³⁵ el receptor 3 adrenérgico⁵³⁶ y PPAR γ 2.⁵³⁷

En relación a la autofagia, la evidencia relacionada con el desarrollo de diabetes y el control glucémico no es muy amplia, si bien últimamente se relaciona a la autofagia con el desarrollo de resistencia a la insulina.⁵³⁸ Un estudio realizado sobre fibras musculares de enfermos diabéticos en diferentes circunstancias, encontró una expresión normal de varios genes y proteínas relacionadas con la autofagia.⁵³⁹ Otro estudio realizado en ratones carentes del gen ATG7 ha demostrado la importancia de la autofagia en el proceso de formación de glucosa, a partir de aminoácidos glucogénicos como la serina, valina, leucina, en otros (de hecho se describen 11 aminoácidos especialmente glucogénicos) a través de la gluconeogénesis.⁵⁴⁰ Esta observación podría resultar esencial en el mantenimiento de los valores glucémicos durante el ayuno. Así mismo, se observó una inducción de la autofagia relacionada con la disminución de la insulina plasmática y del glucógeno hepático tras 24 horas de ayuno.

Otro trabajo reciente, ha demostrado la implicación de la autofagia mediada por TRIB3 y P62, junto con la vía UPS (ubiquitin protein system), en el desarrollo tumoral relacionada con el influjo de insulina/IGF, lo que podría abrir la posibilidad de futuras implicaciones terapéuticas en la diabetes, y en las enfermedades metabólicas relacionadas con la obesidad.⁵⁴¹

Por otra parte, la resistencia a la insulina se relaciona con alteraciones en el sistema UPS y con la autofagia. El sistema UPS, desempeña una importante función en la degradación proteica de importantes moléculas relacionadas con la vía de señalización de la insulina, como el sustrato del receptor de la insulina (IRS-1/2) y la proteínquinasa B (PKB-AKT).⁵⁴²

La autofagia se ha relacionado con la obesidad, la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus tipo 2 a través del estrés del retículo endoplasmático,⁵⁴³ resultando fundamental en el desarrollo y el funcionamiento de los adipocitos, interviniendo en la adipogénesis, lipólisis y secreción de adipocinas.^{544,545} A este respecto, se ha demostrado que la inhibición genética de la autofagia en ratones mutados, carentes de algunos de los principales genes relacionados con la misma como ATG7 y ATG5, alimentados con regímenes ricos en grasas, o la inhibición farmacológica de la misma, se asocia a pérdida de peso y a incremento de la sensibilidad a la insulina.⁵⁴⁶ Otro estudio realizado en ratones mostró que en los adipocitos hipertróficos que presentaban resistencia a la insulina, ciertos genes de la autofagia (entre ellos LAMP1, LAMP2 o ATG5), se encontraban inhibidos, mientras que se expresaban de forma significativa genes inflamatorios.⁵⁴⁷

Si bien no hemos discriminado el tipo de diabetes en los pacientes incluidos en nuestro trabajo, la mayoría eran diabéticos tipo 2. En la diabetes tipo 2, la repercusión de órganos diana depende en gran medida no solo del control glucémico sino del control de otros factores de riesgo asociados como la obesidad, la hipertensión o la dislipemia, lo que podría aumentar los factores de confusión en un estudio de asociación.⁵⁴⁸

La ausencia de asociación en los enfermos diabéticos considerados de forma global, sin tener en cuenta la repercusión de órganos diana, la débil asociación encontrada por nuestro SNP en el estudio por alelos siguiendo el modelo dominante hace difícilmente justificable a priori la asociación encontrada.

No obstante, como se ha expuesto anteriormente, la autofagia se relaciona con la obesidad y la resistencia a la insulina y esta, a su vez, favorece un peor control glucémico postprandial y la asociación con otros factores de riesgo como HTA y la dislipidemia, lo que podrían favorecer el desarrollo de lesiones vasculares.

6.6. GENES REPARADORES DEL DNA Y PLURIPATOLOGÍA.

En nuestro estudio hemos encontrado una asociación significativa entre el SNP del gen XRCC1 rs1799782 y la presencia de pluripatología en nuestros pacientes ($p=0,07$), de manera que la presencia del alelo C incrementa tres veces el riesgo de ser un paciente pluripatológico, (IC 95% 1,4-6,0).

Definimos la presencia de pluripatología en aquellos enfermos que presentan tres o más comorbilidades de las recogidas. En la revisión bibliográfica efectuada no hemos encontrado ningún estudio concreto que relacione el polimorfismo estudiado con la presencia de pluripatología. Sin embargo, son muchos los realizados con este polimorfismo y otros SNPs del gen XRCC1 que lo relacionan con diferentes enfermedades oncológicas⁵⁴⁹ y no oncológicas: como la patología cardiovascular, habiéndose asociado con el riesgo y tamaño de lesiones cerebrovasculares;⁵⁵⁰ enfermedades respiratorias como el asma,⁵⁵¹ o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica;⁵⁵² enfermedades neurodegenerativas como la esclerosis lateral amiotrófica³⁸⁶ o la enfermedad de Alzheimer,³⁸⁵ o enfermedad del tejido conectivo como el lupus eritematoso sistémico.⁵⁵³

Otros trabajos desarrollados en diferentes poblaciones han observado que el SNP del gen XRCC1 rs1799782 se comporta como un factor protector frente a enfermedad oncológica³⁷⁸ y no oncológica, como la EPOC.⁵⁵⁴

Por todo ello, se podría plantear que la implicación de este gen en mecanismos de reparación del DNA podría resultar importante para el desarrollo de múltiples enfermedades y por primera vez ponemos de manifiesto que la presencia del alelo C del SNP rs1799782 podría ser un marcador de riesgo para el desarrollo de pluripatología en el proceso de envejecimiento.

6.7. GENES REPARADORES DEL DNA E HTA.

En nuestro estudio hemos encontrado una asociación significativa entre el SNP del gen XRCC1 rs1799782 y la HTA ($p=0,013$). La presencia del alelo C incrementa 2,5 veces el riesgo de desarrollar HTA (IC 95%:1,3-4,8).

Aunque existen formas monogénicas de la enfermedad, en las que raras mutaciones justifican plenamente en el desarrollo de HTA, como es el caso de los genes implicados en el síndrome de Liddle, relacionado con una mutación en el canal de sodio;⁵⁵⁵ el pseudohiperaldosteronismo tipo 2 (síndrome de Gordon o hipertensión hipekalémica familiar), en la que se observan mutaciones en WNK quinasa tipo 1 y 4;⁵⁵⁶ o el aldosteronismo remediable con corticoides, en el que existe un gen quimérico formado por porciones del gen 11- β -hidroxilasa y el gen aldosterona sintetasa,⁵⁵⁷ la HTA se comporta fundamentalmente como un enfermedad poligénica.⁵⁵⁸ A pesar de que muchos genes y factores genéticos se han relacionado con la misma, resulta extremadamente difícil conocer con seguridad la contribución relativa de cada uno de esos genes.⁵⁵⁹ Un estudio, valoró la influencia de 200 polimorfismos genéticos sobre la HTA, determinando que el peso de los mismos sobre la HTA sistólica era solo del 1.3% después de ajustar factores como la edad, el sexo o el IMC.⁵⁶⁰

El peso de la genética sobre la HTA, se encuentra afianzado por estudios que han demostrado que el riesgo de hipertensión es aproximadamente el doble en aquellos pacientes con

antecedentes familiares directos, habiéndose observado igualmente que los factores genéticos justifican una variación del 30% en los valores tensionales entre diferentes poblaciones.⁵⁶¹

Unos de los factores fisiopatológicos de mayor peso en la influencia genética en el desarrollo de HTA lo constituyen las alteraciones renales,⁵⁶² tanto parenquimatosas como vasculares. Diferentes estudios en enfermos transplantados han demostrado cambios del perfil tensional del receptor, relacionados con la presencia o no de hipertensión en el donante.^{563,564} A este respecto, se han descrito varias mutaciones puntuales que afectan al canal de sodio⁵⁵⁷ o al receptor de angiotensina tipo 1.⁵⁶⁵

En relación a la importancia del eje renina-angiotensina-aldosterona; a pesar de que se ha planteado la importancia del gen de la angiotensina en relación con la HTA, no está completamente establecido que algún polimorfismo en dicho gen modifique la expresión o el mecanismo de actuación y se relacione claramente con el riesgo de desarrollar HTA.⁵⁶⁶ Por el contrario, un SNP en el gen de la aldosterona sintetasa se ha asociado a incremento del riesgo de HTA.⁵⁶⁷

La α -aduccina, una proteína del citoesqueleto, se ha asociado a incremento de riesgo de HTA.⁵⁶⁸ Un trabajo relacionó un SNP en dicho gen con el riesgo de HTA y un con un pronóstico adverso,⁵⁶⁹ especulándose con que el mecanismo involucrado en el desarrollo de HTA podría ser un incremento en la reabsorción de sodio a nivel renal favorecido por la polimerización de la actina⁵⁷⁰ o bien, como se ha demostrado en otro estudio, relacionarse con mecanismos de vasodilatación dependientes del endotelio.⁵⁷¹ Otro subtipo de aduccina, la γ -aduccina, se ha relacionado con el control de la tensión arterial, incrementando la actividad del canal de Na/Cl sensible a las tiazidas en el túbulo contorneado distal.⁵⁷²

Algunos otros genes involucrados con el riesgo de desarrollo de HTA, incluyen el gen connexin40, que se asocia a hipertensión con altos niveles de renina plasmática;⁵⁷³ STK39 (Serina-treonina quinasa 39), que interactuando con WNK quinasa, regula el transporte de cloruro sódico⁵⁷⁴; SGK1 (quinasa inducible por glucocorticoides tipo 1), involucrado en la HTA a través de expresión del canal de sodio a nivel endotelial⁵⁷⁵; la sintetasa del óxido nítrico a nivel endotelial,⁵⁷⁶ etc.

El estrés oxidativo podría jugar un papel patológico en el desarrollo de hipertensión a través de la disfunción endotelial.⁵⁷⁷ Por otra parte, el estrés oxidativo provoca inestabilidad genómica, siendo necesarios mecanismos de reparación al objeto de mantener la integridad del DNA. Un estudio reciente, del año 2014, ha intentado relacionar cinco polimorfismos de diferentes genes reparadores del DNA con la hipertensión arterial, encontrando un polimorfismo del gen XRCC1 rs25487 como marcador de riesgo siguiendo un patrón recesivo; sin embargo el SNP rs1799782, no se asocio a riesgo de desarrollar hipertensión.⁵⁷⁸

Otros estudios similares, han relacionado otro gen (APE1/REF-1) (Apurina/Apirimidina endonucleasa 1/factor 1 efectos redox), relacionado con la reparación del DNA, concretamente en la vía BER, con el riesgo de desarrollar cardiopatía isquémica, lo podría abrir la posibilidad de estar relacionado con la hipertensión arterial.⁵⁷⁹

En nuestro conocimiento, nuestro trabajo muestra por primera vez una asociación de este SNP con el riesgo de HTA, en contra de lo descrito en un trabajo previo realizado en población china.⁵⁷⁸ Las diferencias interpoblacionales podrían justificar la disparidad de resultados. Con las limitaciones propias del estudio, bajo tamaño muestral, cierta asimetría de tamaño con el grupo

control, se podría plantear la relación de este SNP concreto del gen XRCC1 rs1799782 como marcador de riesgo para el desarrollo de HTA, siendo necesario realizar más estudios para corroborar esta hipótesis.

6.8. GENES REPARADORES DEL DNA Y OBESIDAD.

En nuestro estudio hemos encontrado una relación significativa entre el SNP del gen XPD/ERCC2 rs13181 y la obesidad. En el estudio del alelo dominante la asociación es altamente significativa ($p=0,001$), de manera que la presencia del alelo T incrementa 2,8 veces el riesgo de sufrir obesidad (IC 95%: 1,5-5,4).

La importancia de la genética sobre la obesidad viene refrendada por estudios realizados en gemelos univitelinos, en los que se ha observado un agrupación significativa de la misma,⁵⁸⁰ y por estudios realizados en adoptados, cuya tendencia a la obesidad dependía más de las características de los padres que de los hábitos de la familia de acogida.

Muy raramente, la obesidad se comporta como un enfermedad monogénica, en la cual una mutación de un gen concreto justifica el desarrollo de la enfermedad, como es el caso de síndromes genéticos como el síndrome de Prader-Willi⁵⁸¹ o el síndrome de Bardet-Biedl.⁵⁸² Mucho más frecuentemente, mutaciones puntuales en varios genes se asocian a otros factores de riesgo, potenciándolos y facilitando así el desarrollo de obesidad.

A través de un estudio de GWAS se han identificado varios de estos genes; de ellos el más importante es el gen FTO (fat mass and obesity associated gen),⁵⁸³ pero también variantes comunes cerca de MC4R (melanocortin-4 receptor)⁵⁸⁴ y ciertos polimorfismos de PCSK1 (prohormone convertase 1/3 gen)⁵⁸⁵ entre otros.

Otras anomalías genéticas relacionadas con la obesidad, incluyen mutaciones en genes como Agouti, que involucra el desarrollo de obesidad con la interacción de péptidos relacionados con la melanocortina y el receptor 4 de la melanocortina⁵⁸⁶, el gen de la leptina⁵⁸⁷ o de su receptor.

Algún estudio ha relacionado genes reparadores del DNA involucrados en la vía NER y la obesidad, demostrándose una reducción de la capacidad reparativa de dichos genes (entre el que incluye XPD/ERCC2) en los enfermos obesos.⁵⁸⁸ A este respecto, se cree que la presencia de bajos niveles inflamatorios de forma permanente en los obesos jugaría un papel fundamental,⁵⁸⁹ así mismo, otros estudios han observado que una nutrición basada en restricción proteica que conlleva bajos niveles de adiposidad evita el deterioro asociado a la edad que se produce en dichos genes.⁵⁹⁰

También se ha encontrado una asociación entre diferentes SNPs en genes reparadores del DNA, entre ellos XPD/ERCC2 rs13181, y el riesgo de linfoma no Hodking en enfermos con alto IMC.⁵⁹¹ Lo que relaciona a la obesidad como factor de riesgo para el desarrollo de linfoma a través de la inflamación de bajo nivel y de la presencia de daño oxidativo del DNA, y esto unido a la presencia de ciertos polimorfismos en mecanismos reparadores del DNA, aumenta el riesgo de neoplasias hematológicas.

En la revisión bibliográfica realizada no hemos encontrado estudios similares que relacionen un SNP en un gen reparador del DNA con el riesgo de desarrollo de obesidad, si bien, como se ha indicado con anterioridad, existen estudios que relacionan fisiopatológicamente ambas

realidades, por lo que nuestro estudio podría abrir la posibilidad a próximos estudios más amplios y realizados en enfermos más seleccionados que pudiera refrendar o negar dicha asociación.

6.9. GENES REPARADORES DEL DNA E INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA GRAVE.

En nuestro estudio hemos encontrado una asociación significativa entre el SNP del gen XPD/ERCC2 rs13181 y la IRC ($p=0,007$). En el estudio alélico siguiendo el modelo dominante, la asociación es altamente significativa ($p=0,009$). La presencia del alelo T triplica el riesgo de desarrollar IRC (IC 95%:1,3-7,3).

La IRC constituye una enfermedad con influencia multifactorial; el riesgo de desarrollo y progresión de la enfermedad depende de varios factores entre los que se incluyen la edad, la raza, el sexo, la obesidad, el tabaquismo, la HTA y la diabetes, entre otros.⁵⁹² Ciertas variantes genéticas pueden desarrollar un papel en la misma.⁵⁹³ El peso de la genética en el desarrollo de IRC viene refrendado por el hecho de que hasta el 22.8% de los enfermos en programa de hemodiálisis presenta un familiar afecto por esta patología.⁵⁹⁴

Varios factores genéticos pueden influir en la respuesta inmune, inflamatoria y en el desarrollo de aterosclerosis, contribuyendo al desarrollo de insuficiencia renal crónica.

SNPs del gen APOE pueden modificar el riesgo de aterosclerosis e influir en la progresión de la insuficiencia renal crónica. Un estudio prospectivo realizado sobre una amplia población observó que la presencia del alelo APOE2 se asocia con un incremento del riesgo de desarrollar IRC, mientras que el alelo APOE4 se comportan como protector, manteniéndose dicha asociación independientemente de los valores de lípidos plasmáticos.⁵⁹²

Se sabe que los enfermos con IRC presentan un predisposición a presentar un incremento de las lesiones del DNA, lo que podría resultar importante en el desarrollo de enfermedad oncológica o cardiovascular posterior.⁵⁹⁵ Este incremento de las lesiones del DNA se podría relacionar con un incremento del estrés oxidativo.⁵⁹⁶ Recordamos que los daños genómicos inducidos por el estrés oxidativo son reparados fundamentalmente a través de las vías BER y NER.

Basado en esa hipótesis, un estudio de casos y controles realizado en población egipcia con IRC, encontró una asociación entre un SNP del gen XRCC1 (Arg399Gln) y el riesgo de desarrollar IRC.⁵⁹⁷ En ese mismo estudio se descartó asociación entre la IRC y ciertos SNP del gen XPD/ERCC2 (XPD Asp312Asn y Lys751Gln); sin embargo, mediante un subanálisis de combinación genotípica, observaron que la combinación de un de SNP del gen XRCC1 (Arg399Gln), junto con otro polimorfismo del gen XPD/ERCC2 (Asp312Asn), se asociaba igualmente a incremento de riesgo de IRC. Un estudio muy similar realizado sobre población turca en programa de hemodiálisis, había encontrado asociación entre el SNP del gen XRCC1 (Arg399Gln) y la IRC, no encontrándose asociación entre la misma y los dos SNP de XPD/ERCC2 analizados.⁵⁹⁸

Nuestros datos divergen con los resultados de los estudios realizados en población turca y egipcia; en dichos estudios se incluyeron enfermos en programa de hemodiálisis, por lo que todos presentaban a priori insuficiencia renal crónica terminal. Las diferencias étnicas, genéticas y ambientales podrían justificar la discordancia en los resultados. Las limitaciones de nuestro

estudio vienen representadas por el bajo tamaño muestral, solo 25 pacientes cumplían criterios de IRC con valores de creatinina > 3 mg/dl y la selección de los enfermos incluidos en el estudio, ya que este no estaba diseñado con este propósito. En todo caso, el dato podría ser interesante, abriendo la puerta a posteriores estudios, más amplios, realizados sobre población específica.

6.10. GENES REPARADORES DEL DNA Y ENFERMEDAD TUMORAL METASTÁSICA.

En nuestro estudio hemos encontrado una asociación significativa entre el SNP del gen pT53 rs1042522 y la presencia de enfermedad tumoral metastásica ($p=0,022$), de manera que ser portador del genotipo GG se comporta como marcador de riesgo.

La relación entre este SNP y el desarrollo tumoral está refrendada por multitud de estudios asociativos, que lo relacionan con diferentes tipos de tumores sólidos, como el cáncer de mama,⁵⁹⁹ cáncer de pancreas⁶⁰⁰, pulmón,⁶⁰¹ cabeza y cuello⁶⁰², colon o ginecológicos.⁶⁰³

Habiéndose igualmente asociado a menor respuesta a diferentes líneas de quimioterapia y un comportamiento más agresivo con el consecuente peor pronóstico.^{416,417} Este dato podría resultar clave en el riesgo de progresión tumoral y desarrollo de enfermedad metastásica.

En nuestro estudio no encontramos una asociación significativa entre el polimorfismo del gen p53 rs1042522 y los tumores sólidos. El número de enfermos recogidos con dicha comorbilidad fue de 33 enfermos (11.2%) de la muestra. En la muestra recogimos el antecedente de neoplasia sólida y no el tipo, estadio, ni situación actual de la enfermedad.

Como quedo establecido en la introducción, este polimorfismo provoca un cambio en la estructura genómica de p53 que resulta esencial en la en la respuesta apoptótica y en la inhibición de la carcinogénesis.⁴⁰⁹ La presencia de arginina en posición 72, induce 5 veces más la apoptosis que la variante con prolina.⁴¹¹ El genotipo Arg/p53 resulta más oncogénico que Pro/p53, en este sentido varios estudios han evidenciado que aquellos enfermos con este segundo fenotipo presentan un crecimiento tumoral más lento y un tamaño menor al diagnóstico.^{412,413}

El tamaño muestral, solo 6 enfermos presentaban enfermedad tumoral metastásica y la ausencia de selección específica en la recogida de datos (tipo de cáncer, estadio, situación clínica..) limita los resultados obtenidos.

La asociación observada refrenda la importancia de este gen y de este polimorfismos concreto en la enfermedad oncológica, validando de alguna manera los resultados obtenidos en el estudio a través de una asociación sólidamente demostrada en la literatura científica.

Por otra parte, la mayoría de estudios desarrollados en este campo han estudiado a dicho polimorfismo como marcador de riesgo para el desarrollo de cáncer y no como marcador pronóstico del mismo, en ese sentido la asociación exclusiva con tumores sólidos en estadio avanzado observada en nuestro estudio aporta cierta novedad.

6.11. COMPARACIÓN EN LA DISTRIBUCIÓN DE POLIMORFISMOS ENTRE NUESTRA POBLACIÓN Y POBLACIÓN JOVEN.

A pesar de toda la evidencia científica desarrollada en los últimos años, que relaciona a la vía de la autofagia y a la reparación del DNA con el envejecimiento y la longevidad. Como ha quedado refrendando anteriormente algunos estudios son discordantes en los resultados, habiéndose obtenidos resultados asociativos diversos según las poblaciones estudiadas.

Los estudios realizados en este ámbito, incluyen población altamente seleccionada, homogénea, con un tamaño muestral alto e intentando evitar sesgos a través de la selección de un grupo control similar, desde el punto de vista de tamaño y exposición ambiental. Igualmente, la mayor parte de estos trabajos han analizado la relación de gran número de SNPs, a veces hasta más de medio millón, con ciertas características del envejecimiento y la longevidad.

La ausencia de resultados positivos en relación con la población joven en nuestro estudio se relaciona a nuestro juicio, en parte, con las limitaciones en la selección de los pacientes incluidos en nuestro trabajo, la ausencia de una población altamente seleccionada, el tamaño muestral y las características del grupo control figuran como factores principales para el resultado obtenido.

Límitaciones del estudio

7. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Al inicio de la discusión ya mencionamos algunas cuestiones metodológicas que, en nuestra opinión limitaban los resultados de nuestro estudio

Así, el reclutamiento de población hospitalizada se comporta como un sesgo de selección poblacional.

Por otra parte, la ausencia de una selección específica de los enfermos según fenotipos de envejecimiento, que podría haber llevado a un mayor reclutamiento de pacientes con dichas características y a homogenizar la muestra. En el mismo sentido, la selección de los controles.

Pese a haber sido laborioso el trabajo hospitalario y de laboratorio realizado en 295 pacientes, este número pudo no ser suficiente para desvelar más asociaciones positivas, quizás demostrables en una cohorte más numerosa. Creemos sin embargo, que este mismo hecho acrecienta el valor de los resultados positivos encontrados.

Nuestro trabajo, finalmente, comparte problemas intrínsecos de los estudios genéticos asociativos sobre polimorfismos, como son: la dificultad para generalizar los resultados a la población general, su limitado poder estadístico, la variaciones observadas entre diferentes poblaciones, así como el hecho de que este tipo de trabajos ignoran la epistasis o capacidad interactiva de los diferentes genes para facilitar la expresión de un fenotipo, las interacciones con el medio ambiente y las variante raras.

Conclusiones

8. CONCLUSIONES

1. La población anciana hospitalizada de nuestro estudio, constituye un grupo heterogéneo de enfermos entre los que, no obstante, la representación de diversos fenotipos predefinidos de envejecimiento es escasa.
2. Distintos polimorfismos de genes implicados en la autofagia se han asociado en nuestra cohorte de pacientes a diferentes patologías: catarata (SNP ATG16L1 rs2241880), enfermedad cerebrovascular (SNP ATG16L1 rs2241880), enfermedad de Parkinson (SNP ATG5 rs2245214), y diabetes mellitus tipo 2 (SNP ATG10 rs1864183).
3. Distintos polimorfismos de genes reparadores del DNA han demostrado su asociación en el estudio a: pluripatología (SNP XRCC1 rs1799782), hipertensión arterial (SNP XRCC1 rs1799782), obesidad (SNP XPD/ERRC2 rs13181), insuficiencia renal crónica grave (SNP XPD/ERRC2 rs13181) y enfermedad tumoral metastásica (SNP TP53 rs1042522).
4. No demostramos diferencias en la distribución de los polimorfismos estudiados entre nuestra población de pacientes ancianos hospitalizados y un grupo control de individuos menores de 65 años.

Anexo

9. ANEXO

En esta sección presentamos el cuaderno de recogida de datos utilizado (Páginas 182-189) y la autorización emitida por parte de la Comisión de Ética del CAUSA para iniciar el estudio (Página 190).

DISTRIBUCIÓN DE POLIMORFISMOS DE GENES DE AUTOFAGIA Y REPARADORES DEL DNA EN UNA POBLACIÓN ANCIANA

CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS

HISTORIA PERSONAL Y FAMILIAR:

Identificación en el estudio:

Sexo: Varón/Mujer

Edad:

Estado civil: Casado/Soltero/Viudo

Estudios: Ninguno/Primarios-Superiores

Nivel de ingresos (TSI):

Lugar de Nacimiento: Salamanca/Fuera de Salamanca

Lugar de Residencia: Salamanca, Ciudad Rodrigo, Vitigudino, Peñaranda, Béjar.

Antecedentes de tabaquismo: Si/No, carga tabáquica:

Antecedentes de alcoholismo: Si/No, UBE:

Edad de fallecimiento del padre:

Edad de fallecimiento de la madre:

Convivencia: Solo/Residencia/Familia

Número de hospitalizaciones en el último año:

Caídas en el último año: Si/No

FC en reposo:

TA basal:

Polifarmacia (nº de fármacos):

PATOLOGÍA CRÓNICA/COMORBILIDAD/PRONÓSTICO:

Disminución de la agudeza visual no subsanable con gafas: Si/No

Sordera no subsanable con prótesis auditiva: Si/No

Úlceras de presión: Si/No, Grado:

Pluripatología: HTA/Obesidad/Enfermedad de

Parkinson/Catarata/DMAE/Insuficiencia renal (CICr ml/min:

)/Depresión/Psicosis/Artrosis/Osteoporosis

COMORBILIDAD (ÍNDICE DE COMORBILIDAD DE CHARLSON)

<http://www.samiuc.es/index.php/calculadores-medicos/calculadores-de-evaluadores-pronosticos/indice-de-comorbilidad-de-charlson-cci.html>

Índice de comorbilidad de Charlson (versión original)

Infarto de miocardio: debe existir evidencia en la historia clínica de que el paciente fue hospitalizado por ello, o bien evidencias de que existieron cambios en enzimas y/o en ECG	1
Insuficiencia cardíaca: debe existir historia de disnea de esfuerzos y/o signos de insuficiencia cardíaca en la exploración física que respondieron favorablemente al tratamiento con digital, diuréticos o vasodilatadores. Los pacientes que estén tomando estos tratamientos, pero no podamos constatar que hubo mejoría clínica de los síntomas y/o signos, no se incluirán como tales	1
Enfermedad arterial periférica: incluye claudicación intermitente, intervenidos de by-pass arterial periférico, isquemia arterial aguda y aquellos con aneurisma de la aorta (torácica o abdominal) de > 6 cm de diámetro	1
Enfermedad cerebrovascular: pacientes con AVC con mínimas secuelas o AVC transitorio	1
Demencia: pacientes con evidencia en la historia clínica de deterioro cognitivo crónico	1
Enfermedad respiratoria crónica: debe existir evidencia en la historia clínica, en la exploración física y en exploración complementaria de cualquier enfermedad respiratoria crónica, incluyendo EPOC y asma	1
Enfermedad del tejido conectivo: incluye lupus, polimiositis, enf. mixta, polimialgia reumática, arteritis cel. gigantes y artritis reumatoide	1
Úlcera gastroduodenal: incluye a aquellos que han recibido tratamiento por un úlcus y aquellos que tuvieron sangrado por úlceras	1
Hepatopatía crónica leve: sin evidencia de hipertensión portal, incluye pacientes con hepatitis crónica	1
Diabetes: incluye los tratados con insulina o hipoglicemiantes, pero sin complicaciones tardías, no se incluirán los tratados únicamente con dieta	1
Hemiplejía: evidencia de hemiplejía o paraplejía como consecuencia de un AVC u otra condición	2
Insuficiencia renal crónica moderada/severa: incluye pacientes en diálisis, o bien con creatininas > 3 mg/dl objetivadas de forma repetida y mantenida	2
Diabetes con lesión en órganos diana: evidencia de retinopatía, neuropatía o nefropatía, se incluyen también antecedentes de cetoacidosis o descompensación hiperosmolar	2
Tumor o neoplasia sólida: incluye pacientes con cáncer, pero sin metástasis documentadas	2
Leucemia: incluye leucemia mieloide crónica, leucemia linfática crónica, policitemia vera, otras leucemias crónicas y todas las leucemias agudas	2
Linfoma: incluye todos los linfomas, Waldstrom y mieloma	2
Hepatopatía crónica moderada/severa: con evidencia de hipertensión portal (ascitis, varices esofágicas o encefalopatía)	3
Tumor o neoplasia sólida con metástasis	6
Sida definido: no incluye portadores asintomáticos	6

Índice de comorbilidad (suma puntuación total) =

Puntuación CCI: 0/1/2/3 />3

Supervivencia a 10 años%:

DISCAPACIDAD:Índice de Katz (actividades básicas de la vida diaria)**1. Baño**

Independiente: Se baña enteramente solo, o bien requiere ayuda únicamente en alguna zona concreta (p. ej., espalda).

Dependiente: Necesita ayuda para lavarse en más de una zona del cuerpo, o bien para entrar o salir de la bañera o ducha.

2. Vestido

Independiente: Coge la ropa y se la pone él solo, puede abrocharse (se excluye atarse los zapatos o ponerse las medias).

Dependiente: No se viste por sí mismo, o permanece parcialmente vestido.

3. Uso del WC

Independiente: Va al WC solo, se arregla la ropa, se limpia él solo.

Dependiente: Precisa ayuda para ir al WC y/o para limpiarse.

4. Movilidad

Independiente: Se levanta y se acuesta de la cama él solo, se levanta y se sienta de una silla él solo, se desplaza solo.

Dependiente: Necesita ayuda para levantarse y/o acostarse, de la cama y/o de la silla. Necesita ayuda para desplazarse o no se desplaza.

5. Continencia

Independiente: Control completo de la micción y defecación.

Dependiente: Incontinencia parcial o total de la micción o defecación.

6. Alimentación

Independiente: Come solo, lleva alimento solo desde el plato a la boca (se excluye cortar los alimentos).

Dependiente: Necesita ayuda para comer, no come solo o requiere alimentación enteral.

A: Independiente para todas las funciones.

B: Independiente para todas menos una cualquiera.

C: Independiente para todas menos baño y otra cualquiera.

D: Independiente para todas menos baño, vestido y otra cualquiera.

E: Independiente para todas menos baño, vestido, uso WC y otra cualquiera.

F: Independiente para todas menos baño, vestido, uso WC, movilidad y otra cualquiera.

G: Dependiente en todas las funciones.

Resultado: A-G

ACTIVIDADES INSTRUMENTALES DE LA VIDA DIARIA

Cuidar la casa		
Cuida la casa sin ayuda	1	
Hace todo, menos el trabajo pesado	2	
Tareas ligeras únicamente	3	
Necesita ayuda para todas las tareas	4	
Incapaz de hacer nada	5	
Lavado de ropa		
La realiza personalmente	1	
Sólo lava pequeñas prendas	2	
Es incapaz de lavar	3	
Preparación de la comida		
Planes, prepara y sirve sin ayuda	1	
Prepara si le dan los ingredientes	2	
Prepara platos precocinados	3	
Tienen que darle la comida hecha	4	
Ir de compras		
Lo hace sin ninguna ayuda	1	
Sólo hace pequeñas compras	2	
Tienen que acompañarle	3	
Es incapaz de ir de compras	4	
Uso del teléfono		
Capaz de utilizarlo sin problemas	1	
Sólo para lugares muy familiares	2	
Puede contestar pero no llamar	3	
Incapaz de utilizarlo	4	
Uso del transporte		
Viaja en transporte público o conduce	1	
Sólo en taxi, no en autobús	2	
Necesita acompañamiento	3	
Incapaz de usarlo	4	
Manejo del dinero		
Lleva cuentas, va a bancos, etc.	1	
Sólo maneja cuentas sencillas	2	
Incapaz de utilizar dinero	3	
Responsable medicamentos		
Responsable de su medicación	1	
Hay que preparárselos	2	
Incapaz de hacerlo por sí solo	3	

Grado de dependencia: Hasta 8 puntos: independientes; 8-20 puntos: necesita cierta ayuda; más de 20 puntos: necesita mucha ayuda

Resultado:

ESTADO COGNITIVO:

Cuestionario corto del estado mental de Pfeiffer.
Short Portable Mental Status Questionnaire (SPMSQ) de Pfeiffer

	Acierto	Error
1. ¿Cuál es la fecha de hoy? (mes, día y año)	()	()
2. ¿Qué día de la semana es hoy?	()	()
3. ¿Cuál es el nombre de este lugar?	()	()
4. ¿Cuál es su número de teléfono? ¿Cuál es su dirección? (si no tiene teléfono)	() ()	
5. ¿Qué edad tiene usted?	()	()
6. ¿Cuál es la fecha de su nacimiento?	()	()
7. ¿Cómo se llama el rey de España?	()	()
8. ¿Quién mandaba en España antes del Rey?	()	()
9. ¿Diga el nombre y los apellidos de su madre?	()	()
10. ¿Restar de 3 en 3 a partir de 20?	()	()

0-2 errores: normal.

3-7 errores: deterioro mental leve-moderado.

8-10 errores: deterioro mental severo.

Con baja escolarización se permite un error más.

Con estudios superiores se contabiliza con un error menos.

Resultado:

ESTADO DE ÁNIMO

Percepción subjetiva del estado de ánimo:

Mala/Regular/Bueno

VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL MNA

<p>Valoración antropométrica</p> <ol style="list-style-type: none"> Índice de masa corporal: <ol style="list-style-type: none"> IMC < 19 = 0 puntos IMC 19 a < 21 = 1 punto IMC 21 a < 23 = 2 puntos IMC > 23 = 3 puntos Circunferencia antebrazo (cm) (CA): <ol style="list-style-type: none"> CA < 21 = 0 puntos CA 21 a 23 = 0,5 puntos CA > 23 = 3 puntos Circunferencia de la pantorrilla (cm) (CP): <ol style="list-style-type: none"> CP < 31 = 0 puntos CP > 31 = 1 punto Pérdida de peso durante los últimos 3 meses: <ol style="list-style-type: none"> Pérdida de peso mayor de 3 kg = 0 puntos No sabe = 1 punto Pérdida de peso entre 1 y 3 kg = 2 puntos Sin pérdida de peso = 3 puntos <p>Valoración global</p> <ol style="list-style-type: none"> Vive independiente (no en residencia u hospital): <ol style="list-style-type: none"> No = 0 puntos Si = 1 punto Toma más de tres medicamentos al día: <ol style="list-style-type: none"> Si = 0 puntos No = 1 punto Ha sufrido un estrés psicológico o una enfermedad: <ol style="list-style-type: none"> Si = 0 puntos No = 1 punto Movilidad: <ol style="list-style-type: none"> Tiene que estar en la cama o en una silla = 0 puntos Capaz de levantarse de la cama o silla pero no de salir = 1 punto Puede salir = 2 puntos Problemas neuropsicológicos: <ol style="list-style-type: none"> Demencia o depresión grave = 0 puntos Demencia leve = 1 punto Sin problemas psicológicos = 2 puntos Úlceras en la piel o por presión: <ol style="list-style-type: none"> Si = 0 puntos No = 1 punto <p>Valoración dietética</p> <ol style="list-style-type: none"> ¿Cuántas comidas completas toma el paciente al día?: <ol style="list-style-type: none"> 1 comida = 0 puntos 2 comidas = 1 punto 3 comidas = 3 puntos 	<ol style="list-style-type: none"> Indicadores seleccionados de la ingesta de proteínas: <p>¿Al menos un servicio de productos lácteos (leche, queso, yogur) al día? Si No</p> <p>¿Dos o más servicios de legumbres o huevos a la semana? Si No</p> <p>¿Carne, pescado o pollo cada día?</p> <p>Si 0 o 1 si = 0 puntos</p> <p>Si 2 si = 0,5 puntos</p> <p>Si 3 si = 1 punto</p> ¿Consume dos o más derivados de frutas o verduras al día?: <ol style="list-style-type: none"> No = 0 puntos Si = 1 punto ¿Ha reducido el consumo alimenticio durante los últimos 3 meses debido a la falta de apetito, problemas digestivos o dificultades al masticar o tragar?: <ol style="list-style-type: none"> Gran falta de apetito = 0 puntos Falta de apetito moderada = 1 punto Sin falta de apetito = 2 puntos ¿Cuánto líquido (agua, zumo, café, té, leche...) consume diariamente? (1 taza = 1/4 de litro): <ol style="list-style-type: none"> Menos de 3 tazas = 0 puntos De 3 a 5 tazas = 0,5 puntos Más de 5 tazas = 1 punto Manera de alimentarse: <ol style="list-style-type: none"> Incapaz de comer sin ayuda = 0 puntos Se autoalimenta con dificultad = 1 punto Se autoalimenta sin ningún problema = 2 puntos <p>Valoración subjetiva</p> <ol style="list-style-type: none"> ¿Creen que tiene problemas nutricionales?: <ol style="list-style-type: none"> Desnutrición importante = 0 puntos No sabe o desnutrición moderada = 1 punto Sin problemas nutricionales = 2 puntos Comparándose con gente de su misma edad, ¿cómo consideran su estado de salud?: <ol style="list-style-type: none"> No tan bueno = 0 puntos No sabe = 0,5 puntos Igual de bueno = 1 punto Mejor = 2 puntos <table border="1" style="margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th colspan="2">Valoración total (máximo 30 puntos)</th> </tr> <tr> <th colspan="2">Puntuación indicadora de desnutrición</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>> 24 puntos</td> <td>Bien nutrido</td> </tr> <tr> <td>de 17 a 23,5 puntos</td> <td>a riesgo de desnutrición</td> </tr> <tr> <td>< 17 puntos</td> <td>desnutrido</td> </tr> </tbody> </table>	Valoración total (máximo 30 puntos)		Puntuación indicadora de desnutrición		> 24 puntos	Bien nutrido	de 17 a 23,5 puntos	a riesgo de desnutrición	< 17 puntos	desnutrido
Valoración total (máximo 30 puntos)											
Puntuación indicadora de desnutrición											
> 24 puntos	Bien nutrido										
de 17 a 23,5 puntos	a riesgo de desnutrición										
< 17 puntos	desnutrido										

Puntuación:

Cálculo de la altura de la pierna: con el individuo sentado o acostado, con la pierna doblada, formando un ángulo recto entre el talón y la rodilla, se mide la distancia que existe entre la superficie anterior del muslo, encima de los cóndilos del fémur y el talón. *Cálculo según la ecuación de Chumlea y col.*

<p>Estatura hombres (cm)= $[2,02 \times \text{AR (cm)}] - [0,04 \times \text{edad (años)}] + 64,19$</p> <p>Estatura mujeres (cm)= $[1,83 \times \text{AR (cm)}] - [0,24 \times \text{edad (años)}] + 84,88$</p>

Altura de la pierna:

Estatura calculada:

PARAMETROS ANALÍTICOS NUTRICIONALES:

Glucosa:
Albúmina:
Colesterol total:
Colesterol LDL:
HDL-col:
Ferritina:
Vitamina B12:
Ácido Fólico:

FUERZA MUSCULAR (HAND GRIP STRENGTH)

Resultado Varones:
Resultado Mujeres:

CRITERIOS DE FRAGILIDAD

Tabla 1. CRITERIO DE SÍNDROME DE FRAGILIDAD

1. Pérdida de peso involuntaria (4.5 Kg. a más por año).
2. Sentimiento de agotamiento general.
3. Debilidad (medida por fuerza de prensión).
4. Lenta velocidad al caminar (basados en una distancia de 4.6 m).
5. Bajo nivel de actividad física (menor de 400 calorías a la semana).

DIAGNÓSTICO Fragilidad: con tres a más criterios Fried 2001

Especificaciones de algunos de los puntos:

2- *Sentimiento de agotamiento general (Exhaustión): ¿Alguna de las siguientes frases reflejan como se ha sentido la última semana?: «Sentía que todo lo que hacía era un esfuerzo» y «No tenía ganas de hacer nada». Los participantes podían contestar: 0=nunca o casi nunca (menos de 1 día), 1=a veces (1—2 días), 2=con frecuencia (3—4 días), 3=siempre o casi siempre (5—7 días). Los participantes que contestaron «2» o «3» a cualquiera de estas dos preguntas fueron clasificados en este criterio como frágiles.*

5- *Bajo nivel de actividad física, se clasificaran como activos a aquellos participantes que realizaban trabajos ligeros diarios y/o actividades deportivas por semana e inactivos los que no lo hacían.*

Puntuación:

PERCEPCIÓN SUBJETIVA DE ENVEJECIMIENTO (Edad aparente/Edad real):

Más joven/Igual/Más viejo.

CUESTIONARIO "SF-12" SOBRE EL ESTADO DE SALUD

INSTRUCCIONES: Las preguntas que siguen se refieren a lo que usted piensa sobre su salud. Sus respuestas permitirán saber como se encuentra usted y hasta qué punto es capaz de hacer sus actividades habituales.

Por favor, conteste cada pregunta marcando una casilla. Si no está seguro/a de cómo responder a una pregunta, por favor, conteste lo que le parezca más cierto.

1. En general, usted diría que su salud es:

1	2	3	4	5
<input type="checkbox"/>				
Excelente	Muy buena	Buena	Regular	Mala

Las siguientes preguntas se refieren a actividades o cosas que usted podría hacer en un día normal. Su salud actual, ¿le limita para hacer esas actividades o cosas? Si es así, ¿cuánto?

	1 Sí, me limita mucho	2 Sí, Me limita un poco	3 No, no me limita nada
2. Esfuerzos moderados , como mover una mesa, pasar la aspiradora, jugar a los bolos o caminar más de 1 hora	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Subir varios pisos por la escalera	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Durante las 4 últimas semanas, ¿ha tenido alguno de los siguientes problemas en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de su salud física?

	1 SÍ	2 NO
4. ¿Hizo menos de lo que hubiera querido hacer?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. ¿Tuvo que dejar de hacer algunas tareas en su trabajo o en sus actividades cotidianas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Durante las 4 últimas semanas, ¿ha tenido alguno de los siguientes problemas en su trabajo o en sus actividades cotidianas, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

- | | | |
|---|--------------------------|--------------------------|
| | 1 | 2 |
| | SÍ | NO |
| 6. ¿Hizo menos de lo que hubiera querido hacer, por algún problema emocional? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. ¿No hizo su trabajo o sus actividades cotidianas tan cuidadosamente como de costumbre, por algún problema emocional? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. Durante <u>las 4 últimas semanas</u> , ¿hasta qué punto <u>el dolor</u> le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)? | | |

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <input type="checkbox"/> |
| Nada | Un poco | Regular | Bastante | Mucho |

Las preguntas que siguen se refieren a cómo se ha sentido y cómo le han ido las cosas durante las 4 últimas semanas. En cada pregunta responda lo que se parezca más a cómo se ha sentido usted. Durante las 4 últimas semanas ¿cuánto tiempo...

- | | | | | | | |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
| | Siempre | Casi siempre | Muchas veces | Algunas veces | Sólo alguna vez | Nunca |
| 9. se sintió calmado y tranquilo? | <input type="checkbox"/> |
| 10. tuvo mucha energía? | <input type="checkbox"/> |
| 11. se sintió desanimado y triste? | <input type="checkbox"/> |

12. Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué frecuencia la salud física o los problemas emocionales le han dificultado sus actividades sociales (como visitar a los amigos o familiares)?

- | | | | | |
|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| <input type="checkbox"/> |
| Siempre | Casi siempre | Algunas veces | Sólo alguna vez | Nunca |

**HOSPITAL
UNIVERSITARIO
DE SALAMANCA**
Paseo de San Vicente 58-182
37007 Salamanca
Comité Ético de Investigación Clínica
Teléfono: 923 29 15 15



E-mail: comite.etico.husa@saludecastillayleon.es

**EL COMITE ETICO DE INVESTIGACION CLINICA DEL AREA DE SALUD DE
SALAMANCA,**

INFORMA:

Que el Proyecto de Investigación presentado por D. JOSÉ IGNACIO MARTÍN GONZÁLEZ,

Titulado:

“DISTRIBUCIÓN DE POLIMORFISMOS DE GENES REPARADORES DE ADN Y DE LA TELOMERASA EN UNA POBLACIÓN ANCIANA”.

Que presenta como Investigador responsable y que se llevará a cabo en el Servicio de Medicina Interna-Los Montalvos, SE AJUSTA A LAS NORMAS ÉTICAS Y DE BUENA PRÁCTICA CLÍNICA, establecidas para tales estudios.

Y para que conste lo firma en Salamanca con fecha 16 de julio de 2013



Fdo.: D. Ignacio Dávila González

Bibliografía

10. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Catálogo de publicaciones de la Administración General del Estado [http://publicacionesoficiales.boe.es/Sección salud](http://publicacionesoficiales.boe.es/Sección%20salud). Actualizado el 25 de Abril de 2014. INE . 2014. 1-11-2015. Ref Type: Electronic Citation
- (2) Michelon E, Blaum C, Semba RD, Xue QL, Ricks MO, Fried LP. Vitamin and carotenoid status in older women: associations with the frailty syndrome. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61:600-607.
- (3) Walston J. Frailty--the search for underlying causes. *Sci Aging Knowledge Environ*. 2004;2004:e4.
- (4) Hitt R, Young-Xu Y, Silver M, Perls T. Centenarians: the older you get, the healthier you have been. *Lancet*. 1999;354:652.
- (5) Perls TT. The oldest old. *Sci Am*. 1995;272:70-75.
- (6) Franceschi C, Motta L, Valensin S et al. Do men and women follow different trajectories to reach extreme longevity? Italian Multicenter Study on Centenarians (IMUSCE). *Aging (Milano)*. 2000;12:77-84.
- (7) Willcox DC, Willcox BJ, Todoriki H, Curb JD, Suzuki M. Caloric restriction and human longevity: what can we learn from the Okinawans? *Biogerontology*. 2006;7:173-177.
- (8) Willcox BJ, Willcox DC, He Q, Curb JD, Suzuki M. Siblings of Okinawan centenarians share lifelong mortality advantages. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61:345-354.
- (9) Mora M, Perales MJ, Serra-Prat M et al. Aging phenotype and its relationship with IGF-I gene promoter polymorphisms in elderly people living in Catalonia. *Growth Horm IGF Res*. 2011;21:174-180.
- (10) Campisi J. Cellular senescence and apoptosis: how cellular responses might influence aging phenotypes. *Exp Gerontol*. 2003;38:5-11.
- (11) Montesanto A, Crocco P, Tallaro F et al. Common polymorphisms in nitric oxide synthase (NOS) genes influence quality of aging and longevity in humans. *Biogerontology*. 2013.
- (12) Fried LP, Tangen CM, Walston J et al. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2001;56:M146-M156.
- (13) Ávila-Funes JA, Aguilar-Navarro S, Melano-Carranza E. [Frailty, an enigmatic and controversial concept in geriatrics. The biological perspective]. *Gac Med Mex*. 2008;144:255-262.
- (14) Xue QL. The frailty syndrome: definition and natural history. *Clin Geriatr Med*. 2011;27:1-15.
- (15) Jurschik GP, Escobar Bravo MA, Nuin OC, Botigue ST. [Frailty criteria in the elderly: a pilot study]. *Aten Primaria*. 2011;43:190-196.
- (16) Rajpathak SN, Liu Y, Ben-David O et al. Lifestyle factors of people with exceptional longevity. *J Am Geriatr Soc*. 2011;59:1509-1512.
- (17) Rowe JW, Kahn RL. Human aging: usual and successful. *Science*. 1987;237:143-149.
- (18) Rowe JW, Kahn RL. Successful aging. *Gerontologist*. 1997;37:433-440.

- (19) Depp CA, Jeste DV. Definitions and predictors of successful aging: a comprehensive review of larger quantitative studies. *Am J Geriatr Psychiatry*. 2006;14:6-20.
- (20) Martin P, Kelly N, Kahana B et al. Defining Successful Aging: A Tangible or Elusive Concept? *Gerontologist*. 2014;gnu044.
- (21) Carrasco M, Martinez G, Foradori A et al. [A novel method for targeting and characterizing healthy older people]. *Rev Med Chil*. 2010;138:1077-1083.
- (22) Newman AB, Arnold AM, Sachs MC et al. Long-term function in an older cohort--the cardiovascular health study all stars study. *J Am Geriatr Soc*. 2009;57:432-440.
- (23) Clegg A, Young J, Iliffe S, Rikkert MO, Rockwood K. Frailty in elderly people. *Lancet*. 2013;381:752-762.
- (24) Sternberg SA, Wershof SA, Karunanathan S, Bergman H, Mark CA. The identification of frailty: a systematic literature review. *J Am Geriatr Soc*. 2011;59:2129-2138.
- (25) Cigolle CT, Ofstedal MB, Tian Z, Blaum CS. Comparing models of frailty: the Health and Retirement Study. *J Am Geriatr Soc*. 2009;57:830-839.
- (26) Walston J, Hadley EC, Ferrucci L et al. Research agenda for frailty in older adults: toward a better understanding of physiology and etiology: summary from the American Geriatrics Society/National Institute on Aging Research Conference on Frailty in Older Adults. *J Am Geriatr Soc*. 2006;54:991-1001.
- (27) Ávila-Funes JA, Amieva H, Barberger-Gateau P et al. Cognitive impairment improves the predictive validity of the phenotype of frailty for adverse health outcomes: the three-city study. *J Am Geriatr Soc*. 2009;57:453-461.
- (28) Boyle PA, Buchman AS, Wilson RS, Leurgans SE, Bennett DA. Physical frailty is associated with incident mild cognitive impairment in community-based older persons. *J Am Geriatr Soc*. 2010;58:248-255.
- (29) Ensrud KE, Ewing SK, Taylor BC et al. Comparison of 2 frailty indexes for prediction of falls, disability, fractures, and death in older women. *Arch Intern Med*. 2008;168:382-389.
- (30) Ensrud KE, Ewing SK, Cawthon PM et al. A comparison of frailty indexes for the prediction of falls, disability, fractures, and mortality in older men. *J Am Geriatr Soc*. 2009;57:492-498.
- (31) Rockwood K, Andrew M, Mitnitski A. A comparison of two approaches to measuring frailty in elderly people. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007;62:738-743.
- (32) Theou O, Brothers TD, Mitnitski A, Rockwood K. Operationalization of frailty using eight commonly used scales and comparison of their ability to predict all-cause mortality. *J Am Geriatr Soc*. 2013;61:1537-1551.
- (33) Yao X, Hamilton RG, Weng NP et al. Frailty is associated with impairment of vaccine-induced antibody response and increase in post-vaccination influenza infection in community-dwelling older adults. *Vaccine*. 2011;29:5015-5021.
- (34) Garonzik-Wang JM, Govindan P, Grinnan JW et al. Frailty and delayed graft function in kidney transplant recipients. *Arch Surg*. 2012;147:190-193.
- (35) Makary MA, Segev DL, Pronovost PJ et al. Frailty as a predictor of surgical outcomes in older patients. *J Am Coll Surg*. 2010;210:901-908.

- (36) Woods NF, LaCroix AZ, Gray SL et al. Frailty: emergence and consequences in women aged 65 and older in the Women's Health Initiative Observational Study. *J Am Geriatr Soc.* 2005;53:1321-1330.
- (37) Ahmed N, Mandel R, Fain MJ. Frailty: an emerging geriatric syndrome. *Am J Med.* 2007;120:748-753.
- (38) Cawthon PM, Marshall LM, Michael Y et al. Frailty in older men: prevalence, progression, and relationship with mortality. *J Am Geriatr Soc.* 2007;55:1216-1223.
- (39) Evenhuis HM, Hermans H, Hilgenkamp TI, Bastiaanse LP, Ehteld MA. Frailty and disability in older adults with intellectual disabilities: results from the healthy ageing and intellectual disability study. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60:934-938.
- (40) Lakey SL, LaCroix AZ, Gray SL et al. Antidepressant use, depressive symptoms, and incident frailty in women aged 65 and older from the Women's Health Initiative Observational Study. *J Am Geriatr Soc.* 2012;60:854-861.
- (41) Leng SX, Cappola AR, Andersen RE et al. Serum levels of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S), and their relationships with serum interleukin-6, in the geriatric syndrome of frailty. *Aging Clin Exp Res.* 2004;16:153-157.
- (42) Valenti G, Denti L, Maggio M et al. Effect of DHEAS on skeletal muscle over the life span: the InCHIANTI study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2004;59:466-472.
- (43) Schaap LA, Pluijm SM, Deeg DJ et al. Higher inflammatory marker levels in older persons: associations with 5-year change in muscle mass and muscle strength. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2009;64:1183-1189.
- (44) Poehlman ET, Toth MJ, Fishman PS et al. Sarcopenia in aging humans: the impact of menopause and disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995;50 Spec No:73-7.:73-77.
- (45) Travison TG, Nguyen AH, Naganathan V et al. Changes in reproductive hormone concentrations predict the prevalence and progression of the frailty syndrome in older men: the concord health and ageing in men project. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:2464-2474.
- (46) Mohr BA, Bhasin S, Kupelian V, Araujo AB, O'Donnell AB, McKinlay JB. Testosterone, sex hormone-binding globulin, and frailty in older men. *J Am Geriatr Soc.* 2007;55:548-555.
- (47) Puts MT, Visser M, Twisk JW, Deeg DJ, Lips P. Endocrine and inflammatory markers as predictors of frailty. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;63:403-411.
- (48) Montero-Odasso M, Duque G. Vitamin D in the aging musculoskeletal system: an authentic strength preserving hormone. *Mol Aspects Med.* 2005;26:203-219.
- (49) Walston J, McBurnie MA, Newman A et al. Frailty and activation of the inflammation and coagulation systems with and without clinical comorbidities: results from the Cardiovascular Health Study. *Arch Intern Med.* 2002;162:2333-2341.
- (50) Leng SX, Xue QL, Tian J, Huang Y, Yeh SH, Fried LP. Associations of neutrophil and monocyte counts with frailty in community-dwelling disabled older women: results from the Women's Health and Aging Studies I. *Exp Gerontol.* 2009;44:511-516.
- (51) Ershler WB, Keller ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. *Annu Rev Med.* 2000;51:245-70.:245-270.

- (52) Ershler WB. Biological interactions of aging and anemia: a focus on cytokines. *J Am Geriatr Soc.* 2003;51:S18-S21.
- (53) Leng S, Chaves P, Koenig K, Walston J. Serum interleukin-6 and hemoglobin as physiological correlates in the geriatric syndrome of frailty: a pilot study. *J Am Geriatr Soc.* 2002;50:1268-1271.
- (54) Varadhan R, Chaves PH, Lipsitz LA et al. Frailty and impaired cardiac autonomic control: new insights from principal components aggregation of traditional heart rate variability indices. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2009;64:682-687.
- (55) Burks TN, Andres-Mateos E, Marx R et al. Losartan restores skeletal muscle remodeling and protects against disuse atrophy in sarcopenia. *Sci Transl Med.* 2011;3:82ra37.
- (56) Rahman I. Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and chronic lung diseases. *J Biochem Mol Biol.* 2003;36:95-109.
- (57) Kunsch C, Medford RM. Oxidative stress as a regulator of gene expression in the vasculature. *Circ Res.* 1999;85:753-766.
- (58) de Souza-Pinto NC, Bohr VA. The mitochondrial theory of aging: involvement of mitochondrial DNA damage and repair. *Int Rev Neurobiol.* 2002;53:519-34.:519-534.
- (59) Wong JM, Collins K. Telomere maintenance and disease. *Lancet.* 2003;362:983-988.
- (60) Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet.* 2003;361:393-395.
- (61) McCann SM, Licinio J, Wong ML, Yu WH, Karanth S, Rettorri V. The nitric oxide hypothesis of aging. *Exp Gerontol.* 1998;33:813-826.
- (62) Drew B, Leeuwenburgh C. Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann N Y Acad Sci.* 2002;959:66-81.:66-81.
- (63) Torregrossa AC, Aranke M, Bryan NS. Nitric oxide and geriatrics: Implications in diagnostics and treatment of the elderly. *J Geriatr Cardiol.* 2011;8:230-242.
- (64) Toprakci M, Ozmen D, Mutaf I et al. Age-associated changes in nitric oxide metabolites nitrite and nitrate. *Int J Clin Lab Res.* 2000;30:83-85.
- (65) Kanski J, Hong SJ, Schoneich C. Proteomic analysis of protein nitration in aging skeletal muscle and identification of nitrotyrosine-containing sequences in vivo by nanoelectrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Biol Chem.* 2005;280:24261-24266.
- (66) van der LB, Labugger R, Skepper JN et al. Enhanced peroxynitrite formation is associated with vascular aging. *J Exp Med.* 2000;192:1731-1744.
- (67) Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Salvetti A. Endothelial dysfunction in hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2001;38 Suppl 2:S11-4.:S11-S14.
- (68) Napoli C, Ignarro LJ. Nitric oxide and pathogenic mechanisms involved in the development of vascular diseases. *Arch Pharm Res.* 2009;32:1103-1108.
- (69) Strosznajder JB, Jesko H, Zambrzycka A, Eckert A, Chalimoniuk M. Age-related alteration of activity and gene expression of endothelial nitric oxide synthase in different parts of the brain in rats. *Neurosci Lett.* 2004;370:175-179.

- (70) Cau SB, Carneiro FS, Tostes RC. Differential modulation of nitric oxide synthases in aging: therapeutic opportunities. *Front Physiol.* 2012;3:218. doi: 10.3389/fphys.2012.00218. eCollection;2012.:218.
- (71) Tsutsui M, Shimokawa H, Otsuji Y, Ueta Y, Sasaguri Y, Yanagihara N. Nitric oxide synthases and cardiovascular diseases: insights from genetically modified mice. *Circ J.* 2009;73:986-993.
- (72) Dere E, De Souza Silva MA, Topic B et al. Aged endothelial nitric oxide synthase knockout mice exhibit higher mortality concomitant with impaired open-field habituation and alterations in forebrain neurotransmitter levels. *Genes Brain Behav.* 2002;1:204-213.
- (73) Nisoli E, Tonello C, Cardile A et al. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *Science.* 2005;310:314-317.
- (74) Domek-Lopacinska KU, Strosznajder JB. Cyclic GMP and nitric oxide synthase in aging and Alzheimer's disease. *Mol Neurobiol.* 2010;41:129-137.
- (75) Paul V, Ekambaram P. Involvement of nitric oxide in learning & memory processes. *Indian J Med Res.* 2011;133:471-8.:471-478.
- (76) Kirchner L, Weitzdoerfer R, Hoeger H et al. Impaired cognitive performance in neuronal nitric oxide synthase knockout mice is associated with hippocampal protein derangements. *Nitric Oxide.* 2004;11:316-330.
- (77) Weitzdoerfer R, Hoeger H, Engidawork E et al. Neuronal nitric oxide synthase knockout mice show impaired cognitive performance. *Nitric Oxide.* 2004;10:130-140.
- (78) Zoubovsky SP, Pogorelov VM, Taniguchi Y et al. Working memory deficits in neuronal nitric oxide synthase knockout mice: potential impairments in prefrontal cortex mediated cognitive function. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011;408:707-712.
- (79) Colas D, Gharib A, Bezin L et al. Regional age-related changes in neuronal nitric oxide synthase (nNOS), messenger RNA levels and activity in SAMP8 brain. *BMC Neurosci.* 2006;7:81.:81.
- (80) Bros M, Boissel JP, Godtel-Armbrust U, Forstermann U. Transcription of human neuronal nitric oxide synthase mRNAs derived from different first exons is partly controlled by exon 1-specific promoter sequences. *Genomics.* 2006;87:463-473.
- (81) Reif A, Schecklmann M, Eirich E et al. A functional promoter polymorphism of neuronal nitric oxide synthase moderates prefrontal functioning in schizophrenia. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2011;14:887-897.
- (82) Metzelthin SF, van RE, de Witte LP et al. Effectiveness of interdisciplinary primary care approach to reduce disability in community dwelling frail older people: cluster randomised controlled trial. *BMJ.* 2013;347:f5264. doi: 10.1136/bmj.f5264.:f5264.
- (83) Daley MJ, Spinks WL. Exercise, mobility and aging. *Sports Med.* 2000;29:1-12.
- (84) Spirduso WW, Cronin DL. Exercise dose-response effects on quality of life and independent living in older adults. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:S598-S608.
- (85) Villareal DT, Chode S, Parimi N et al. Weight loss, exercise, or both and physical function in obese older adults. *N Engl J Med.* 2011;364:1218-1229.

- (86) Fiatarone MA, O'Neill EF, Ryan ND et al. Exercise training and nutritional supplementation for physical frailty in very elderly people. *N Engl J Med.* 1994;330:1769-1775.
- (87) Hunter GR, McCarthy JP, Bamman MM. Effects of resistance training on older adults. *Sports Med.* 2004;34:329-348.
- (88) Miller ME, Rejeski WJ, Reboussin BA, Ten Have TR, Ettinger WH. Physical activity, functional limitations, and disability in older adults. *J Am Geriatr Soc.* 2000;48:1264-1272.
- (89) Lamberts SW, van den Beld AW, van der Lely AJ. The endocrinology of aging. *Science.* 1997;278:419-424.
- (90) Tenover JS. Androgen replacement therapy to reverse and/or prevent age-associated sarcopenia in men. *Baillieres Clin Endocrinol Metab.* 1998;12:419-425.
- (91) Lamberts SW. The somatopause: to treat or not to treat? *Horm Res.* 2000;53 Suppl 3:42-3:42-43.
- (92) Morley JE, Kim MJ, Haren MT. Frailty and hormones. *Rev Endocr Metab Disord.* 2005;6:101-108.
- (93) Ensrud KE, Blackwell TL, Cauley JA et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels and frailty in older men: the osteoporotic fractures in men study. *J Am Geriatr Soc.* 2011;59:101-106.
- (94) Ganz DA, Fung CH, Sinsky CA, Wu S, Reuben DB. Key elements of high-quality primary care for vulnerable elders. *J Gen Intern Med.* 2008;23:2018-2023.
- (95) Eng C, Pedulla J, Eleazer GP, McCann R, Fox N. Program of All-inclusive Care for the Elderly (PACE): an innovative model of integrated geriatric care and financing. *J Am Geriatr Soc.* 1997;45:223-232.
- (96) Mukamel DB, Peterson DR, Temkin-Greener H et al. Program characteristics and enrollees' outcomes in the Program of All-Inclusive Care for the Elderly (PACE). *Milbank Q.* 2007;85:499-531.
- (97) Palmer RM, Counsell S, Landefeld CS. Clinical intervention trials: the ACE unit. *Clin Geriatr Med.* 1998;14:831-849.
- (98) Gill TM, Allore HG, Gahbauer EA, Murphy TE. Change in disability after hospitalization or restricted activity in older persons. *JAMA.* 2010;304:1919-1928.
- (99) Counsell SR, Holder CM, Liebenauer LL et al. Effects of a multicomponent intervention on functional outcomes and process of care in hospitalized older patients: a randomized controlled trial of Acute Care for Elders (ACE) in a community hospital. *J Am Geriatr Soc.* 2000;48:1572-1581.
- (100) Braun JV, Wykle MH, Cowling WR, III. Failure to thrive in older persons: a concept derived. *Gerontologist.* 1988;28:809-812.
- (101) Hamerman D. Toward an understanding of frailty. *Ann Intern Med.* 1999;130:945-950.
- (102) Sarkisian CA, Lachs MS. "Failure to thrive" in older adults. *Ann Intern Med.* 1996;124:1072-1078.
- (103) Ritchie CS, Locher JL, Roth DL, McVie T, Sawyer P, Allman R. Unintentional weight loss predicts decline in activities of daily living function and life-space mobility over 4

- years among community-dwelling older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63:67-75.
- (104) Landi F, Zuccala G, Gambassi G et al. Body mass index and mortality among older people living in the community. *J Am Geriatr Soc*. 1999;47:1072-1076.
- (105) Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Heath CW, Jr. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. *N Engl J Med*. 1999;341:1097-1105.
- (106) Fine JT, Colditz GA, Coakley EH et al. A prospective study of weight change and health-related quality of life in women. *JAMA*. 1999;282:2136-2142.
- (107) Launer LJ, Harris T, Rumpel C, Madans J. Body mass index, weight change, and risk of mobility disability in middle-aged and older women. The epidemiologic follow-up study of NHANES I. *JAMA*. 1994;271:1093-1098.
- (108) Ritchie CS, Locher JL, Roth DL, McVie T, Sawyer P, Allman R. Unintentional weight loss predicts decline in activities of daily living function and life-space mobility over 4 years among community-dwelling older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63:67-75.
- (109) Rehman, H. U. Involuntary weight loss in the elderly. 2005. *Nutrition*, 13(7), 37-45. Ref Type: Generic
- (110) Fabiny AR, Kiel DP. Assessing and treating weight loss in nursing home patients. *Clin Geriatr Med*. 1997;13:737-751.
- (111) Katz S, Akpom CA. 12. Index of ADL. *Med Care*. 1976;14:116-118.
- (112) Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist*. 1969;9:179-186.
- (113) Fried LP, Ferrucci L, Darer J, Williamson JD, Anderson G. Untangling the concepts of disability, frailty, and comorbidity: implications for improved targeting and care. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2004;59:255-263.
- (114) Gill TM, Guo Z, Allore HG. Subtypes of disability in older persons over the course of nearly 8 years. *J Am Geriatr Soc*. 2008;56:436-443.
- (115) Hildebrand JK, Joos SK, Lee MA. Use of the diagnosis "failure to thrive" in older veterans. *J Am Geriatr Soc*. 1997;45:1113-1117.
- (116) Berkman B, Foster LW, Champion E. Failure to thrive: paradigm for the frail elder. *Gerontologist*. 1989;29:654-659.
- (117) Alzheimer's Association. An overview of Alzheimer's disease; general statistics/demographics. 2015. Ref Type: Generic
- (118) NIH consensus conference. Diagnosis and treatment of depression in late life. *JAMA*. 1992;268:1018-1024.
- (119) Guigoz Y, Vellas B, Garry PJ. Assessing the nutritional status of the elderly: The Mini Nutritional Assessment as part of the geriatric evaluation. *Nutr Rev*. 1996;54:S59-S65.
- (120) Katz IR, DiFilippo S. Neuropsychiatric aspects of failure to thrive in late life. *Clin Geriatr Med*. 1997;13:623-638.
- (121) Andrew MK, Mitnitski AB, Rockwood K. Social vulnerability, frailty and mortality in elderly people. *PLoS One*. 2008;3:e2232.

- (122) Pillemer K, Finkelhor D. The prevalence of elder abuse: a random sample survey. *Gerontologist*. 1988;28:51-57.
- (123) Podsiadlo D, Richardson S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc*. 1991;39:142-148.
- (124) Robertson RG, Montagnini M. Geriatric failure to thrive. *Am Fam Physician*. 2004;70:343-350.
- (125) Walter LC, Covinsky KE. Cancer screening in elderly patients: a framework for individualized decision making. *JAMA*. 2001;285:2750-2756.
- (126) Murabito JM, Yuan R, Lunetta KL. The search for longevity and healthy aging genes: insights from epidemiological studies and samples of long-lived individuals. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012;67:470-479.
- (127) Herskind AM, McGue M, Holm NV, Sorensen TI, Harvald B, Vaupel JW. The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870-1900. *Hum Genet*. 1996;97:319-323.
- (128) Sebastiani P, Perls TT. The genetics of extreme longevity: lessons from the new England centenarian study. *Front Genet*. 2012;3:277. doi: 10.3389/fgene.2012.00277. eCollection;2012.:277.
- (129) Perls TT, Wilmoth J, Levenson R et al. Life-long sustained mortality advantage of siblings of centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:8442-8447.
- (130) Perls T, Shea-Drinkwater M, Bowen-Flynn J et al. Exceptional familial clustering for extreme longevity in humans. *J Am Geriatr Soc*. 2000;48:1483-1485.
- (131) Reed T, Dick DM. Heritability and validity of healthy physical aging (wellness) in elderly male twins. *Twin Res*. 2003;6:227-234.
- (132) Atzmon G, Schechter C, Greiner W, Davidson D, Rennert G, Barzilai N. Clinical phenotype of families with longevity. *J Am Geriatr Soc*. 2004;52:274-277.
- (133) Brooks-Wilson AR. Genetics of healthy aging and longevity. *Hum Genet*. 2013;132:1323-1338.
- (134) Newman AB, Walter S, Lunetta KL et al. A meta-analysis of four genome-wide association studies of survival to age 90 years or older: the Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology Consortium. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010;65:478-487.
- (135) Talens RP, Christensen K, Putter H et al. Epigenetic variation during the adult lifespan: cross-sectional and longitudinal data on monozygotic twin pairs. *Aging Cell*. 2012;11:694-703.
- (136) Gravina S, Vijg J. Epigenetic factors in aging and longevity. *Pflugers Arch*. 2010;459:247-258.
- (137) Bell JT, Tsai PC, Yang TP et al. Epigenome-wide scans identify differentially methylated regions for age and age-related phenotypes in a healthy ageing population. *PLoS Genet*. 2012;8:e1002629.
- (138) Heyn H, Li N, Ferreira HJ et al. Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2012;109:10522-10527.
- (139) Bjornsson HT, Sigurdsson MI, Fallin MD et al. Intra-individual change over time in DNA methylation with familial clustering. *JAMA*. 2008;299:2877-2883.

- (140) Gentilini D, Mari D, Castaldi D et al. Role of epigenetics in human aging and longevity: genome-wide DNA methylation profile in centenarians and centenarians' offspring. *Age (Dordr)*. 2013;35:1961-1973.
- (141) Greer EL, Maures TJ, Ucar D et al. Transgenerational epigenetic inheritance of longevity in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2011;479:365-371.
- (142) Sarup P, Sorensen P, Loeschcke V. Flies selected for longevity retain a young gene expression profile. *Age (Dordr)*. 2011;33:69-80.
- (143) ElSharawy A, Keller A, Flachsbarth F et al. Genome-wide miRNA signatures of human longevity. *Aging Cell*. 2012;11:607-616.
- (144) Gombar S, Jung HJ, Dong F et al. Comprehensive microRNA profiling in B-cells of human centenarians by massively parallel sequencing. *BMC Genomics*. 2012;13:353. doi: 10.1186/1471-2164-13-353.:353-13.
- (145) Ganna A, Rivadeneira F, Hofman A et al. Genetic determinants of mortality. Can findings from genome-wide association studies explain variation in human mortality? *Hum Genet*. 2013;132:553-561.
- (146) Sebastiani P, Solovieff N, Dewan AT et al. Genetic signatures of exceptional longevity in humans. *PLoS One*. 2012;7:e29848.
- (147) Sebastiani P, Bae H, Sun FX et al. Meta-analysis of genetic variants associated with human exceptional longevity. *Aging (Albany NY)*. 2013;5:653-661.
- (148) Sevini F, Giuliani C, Vianello D et al. mtDNA mutations in human aging and longevity: controversies and new perspectives opened by high-throughput technologies. *Exp Gerontol*. 2014;56:234-44. doi: 10.1016/j.exger.2014.03.022. Epub;2014 Apr 5.:234-244.
- (149) Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408:239-247.
- (150) Raule N, Sevini F, Li S et al. The co-occurrence of mtDNA mutations on different oxidative phosphorylation subunits, not detected by haplogroup analysis, affects human longevity and is population specific. *Aging Cell*. 2014;13:401-407.
- (151) De BG, Carrieri G, Garasto S et al. Does a retrograde response in human aging and longevity exist? *Exp Gerontol*. 2000;35:795-801.
- (152) Rose G, Passarino G, Carrieri G et al. Paradoxes in longevity: sequence analysis of mtDNA haplogroup J in centenarians. *Eur J Hum Genet*. 2001;9:701-707.
- (153) Dato S, Crocco P, D'Aquila P et al. Exploring the role of genetic variability and lifestyle in oxidative stress response for healthy aging and longevity. *Int J Mol Sci*. 2013;14:16443-16472.
- (154) Ristow M, Zarse K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Exp Gerontol*. 2010;45:410-418.
- (155) Soerensen M, Christensen K, Stevnsner T, Christiansen L. The Mn-superoxide dismutase single nucleotide polymorphism rs4880 and the glutathione peroxidase 1 single nucleotide polymorphism rs1050450 are associated with aging and longevity in the oldest old. *Mech Ageing Dev*. 2009;130:308-314.

- (156) Gentschew L, Flachsbar F, Kleindorp R, Badarinarayan N, Schreiber S, Nebel A. Polymorphisms in the superoxidase dismutase genes reveal no association with human longevity in Germans: a case-control association study. *Biogerontology*. 2013;14:719-727.
- (157) Zhu H, Belcher M, van der HP. Healthy aging and disease: role for telomere biology? *Clin Sci (Lond)*. 2011;120:427-440.
- (158) Njajou OT, Hsueh WC, Blackburn EH et al. Association between telomere length, specific causes of death, and years of healthy life in health, aging, and body composition, a population-based cohort study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2009;64:860-864.
- (159) Kim S, Bi X, Czarny-Ratajczak M et al. Telomere maintenance genes SIRT1 and XRCC6 impact age-related decline in telomere length but only SIRT1 is associated with human longevity. *Biogerontology*. 2012;13:119-131.
- (160) Bendix L, Gade MM, Staun PW et al. Leukocyte telomere length and physical ability among Danish twins age 70+. *Mech Ageing Dev*. 2011;132:568-572.
- (161) Risques RA, Arbeevev KG, Yashin AI et al. Leukocyte telomere length is associated with disability in older u.s. Population. *J Am Geriatr Soc*. 2010;58:1289-1298.
- (162) Halaschek-Wiener J, Vulto I, Fornika D et al. Reduced telomere length variation in healthy oldest old. *Mech Ageing Dev*. 2008;129:638-641.
- (163) Soerensen M, Thinggaard M, Nygaard M et al. Genetic variation in TERT and TERC and human leukocyte telomere length and longevity: a cross-sectional and longitudinal analysis. *Aging Cell*. 2012;11:223-227.
- (164) Atzmon G, Cho M, Cawthon RM et al. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Genetic variation in human telomerase is associated with telomere length in Ashkenazi centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107 Suppl 1:1710-7. doi: 10.1073/pnas.0906191106. Epub;2009 Nov 13.:1710-1717.
- (165) Deelen J, Uh HW, Monajemi R et al. Gene set analysis of GWAS data for human longevity highlights the relevance of the insulin/IGF-1 signaling and telomere maintenance pathways. *Age (Dordr)*. 2013;35:235-249.
- (166) Newman AB, Murabito JM. The epidemiology of longevity and exceptional survival. *Epidemiol Rev*. 2013;35:181-97. doi: 10.1093/epirev/mxs013. Epub;2013 Jan 31.:181-197.
- (167) Manolio TA, Collins FS, Cox NJ et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461:747-753.
- (168) Wang K, Li M, Hakonarson H. Analysing biological pathways in genome-wide association studies. *Nat Rev Genet*. 2010;11:843-854.
- (169) Christensen K, Johnson TE, Vaupel JW. The quest for genetic determinants of human longevity: challenges and insights. *Nat Rev Genet*. 2006;7:436-448.
- (170) Jacobsen R, Martinussen T, Christiansen L et al. Increased effect of the ApoE gene on survival at advanced age in healthy and long-lived Danes: two nationwide cohort studies. *Aging Cell*. 2010;9:1004-1009.
- (171) Schachter F, Faure-Delanef L, Guenot F et al. Genetic associations with human longevity at the APOE and ACE loci. *Nat Genet*. 1994;6:29-32.

- (172) Willcox BJ, Donlon TA, He Q et al. FOXO3A genotype is strongly associated with human longevity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:13987-13992.
- (173) Liu CC, Kanekiyo T, Xu H, Bu G. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol*. 2013;9:106-118.
- (174) Farrer LA, Cupples LA, Haines JL et al. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA*. 1997;278:1349-1356.
- (175) Jofre-Monseny L, Minihane AM, Rimbach G. Impact of apoE genotype on oxidative stress, inflammation and disease risk. *Mol Nutr Food Res*. 2008;52:131-145.
- (176) Seripa D, Franceschi M, Matera MG et al. Sex differences in the association of apolipoprotein E and angiotensin-converting enzyme gene polymorphisms with healthy aging and longevity: a population-based study from Southern Italy. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61:918-923.
- (177) Deelen J, Beekman M, Uh HW et al. Genome-wide association study identifies a single major locus contributing to survival into old age; the APOE locus revisited. *Aging Cell*. 2011;10:686-698.
- (178) Nebel A, Kleindorp R, Caliebe A et al. A genome-wide association study confirms APOE as the major gene influencing survival in long-lived individuals. *Mech Ageing Dev*. 2011;132:324-330.
- (179) Garatachea N, Emanuele E, Calero M et al. ApoE gene and exceptional longevity: Insights from three independent cohorts. *Exp Gerontol*. 2014;53:16-23. doi: 10.1016/j.exger.2014.02.004. Epub;2014 Feb 15.:16-23.
- (180) Beekman M, Blanche H, Perola M et al. Genome-wide linkage analysis for human longevity: Genetics of Healthy Aging Study. *Aging Cell*. 2013;12:184-193.
- (181) Schupf N, Barral S, Perls T et al. Apolipoprotein E and familial longevity. *Neurobiol Aging*. 2013;34:1287-1291.
- (182) Deelen J, Beekman M, Uh HW et al. Genome-wide association meta-analysis of human longevity identifies a novel locus conferring survival beyond 90 years of age. *Hum Mol Genet*. 2014;23:4420-4432.
- (183) Tindale LC, Leach S, Ushey K, Daley D, Brooks-Wilson AR. Rare and common variants in the Apolipoprotein E gene in healthy oldest old. *Neurobiol Aging*. 2014;35:727-3.
- (184) Sebastiani P, Riva A, Montano M et al. Whole genome sequences of a male and female supercentenarian, ages greater than 114 years. *Front Genet*. 2012;2:90. doi: 10.3389/fgene.2011.00090. eCollection;2011.:90.
- (185) Anselmi CV, Malovini A, Roncarati R et al. Association of the FOXO3A locus with extreme longevity in a southern Italian centenarian study. *Rejuvenation Res*. 2009;12:95-104.
- (186) Flachsbar F, Caliebe A, Kleindorp R et al. Association of FOXO3A variation with human longevity confirmed in German centenarians. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:2700-2705.
- (187) Li Y, Wang WJ, Cao H et al. Genetic association of FOXO1A and FOXO3A with longevity trait in Han Chinese populations. *Hum Mol Genet*. 2009;18:4897-4904.

- (188) Bonafe M, Barbieri M, Marchegiani F et al. Polymorphic variants of insulin-like growth factor I (IGF-I) receptor and phosphoinositide 3-kinase genes affect IGF-I plasma levels and human longevity: cues for an evolutionarily conserved mechanism of life span control. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:3299-3304.
- (189) Holzenberger M, Dupont J, Ducos B et al. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature.* 2003;421:182-187.
- (190) Morris BJ, Donlon TA, He Q et al. Association analyses of insulin signaling pathway gene polymorphisms with healthy aging and longevity in Americans of Japanese ancestry. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2014;69:270-273.
- (191) Barzilai N, Atzmon G, Schechter C et al. Unique lipoprotein phenotype and genotype associated with exceptional longevity. *JAMA.* 2003;290:2030-2040.
- (192) Koropatnick TA, Kimbell J, Chen R et al. A prospective study of high-density lipoprotein cholesterol, cholesteryl ester transfer protein gene variants, and healthy aging in very old Japanese-american men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2008;63:1235-1240.
- (193) Yang JK, Gong YY, Xie L, Yang Y, Xu LY, Zhang YP. Association study of promoter polymorphisms in the CETP gene with longevity in the Han Chinese population. *Mol Biol Rep.* 2014;41:325-329.
- (194) Li Q, Huang P, He QC, Lin QZ, Wu J, Yin RX. Association between the CETP polymorphisms and the risk of Alzheimer's disease, carotid atherosclerosis, longevity, and the efficacy of statin therapy. *Neurobiol Aging.* 2014;35:1513-1523.
- (195) Nijjati M, Saidaming A, Qiao J, Cheng Z, Qiu C, Sun Y. GNB3, eNOS, and mitochondrial DNA polymorphisms correlate to natural longevity in a Xinjiang Uygur population. *PLoS One.* 2013;8:e81806.
- (196) Falcone C, Bozzini S, Colonna A et al. Possible role of -374T/A polymorphism of RAGE gene in longevity. *Int J Mol Sci.* 2013;14:23203-23211.
- (197) Flachsbarf F, Caliebe A, Heinsen FA et al. Investigation of complement component C4 copy number variation in human longevity. *PLoS One.* 2014;9:e86188.
- (198) Debrabant B, Soerensen M, Flachsbarf F et al. Human longevity and variation in DNA damage response and repair: study of the contribution of sub-processes using competitive gene-set analysis. *Eur J Hum Genet.* 2014;22:1131-1136.
- (199) Puca AA, Daly MJ, Brewster SJ et al. A genome-wide scan for linkage to human exceptional longevity identifies a locus on chromosome 4. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:10505-10508.
- (200) Reed T, Dick DM, Uniacke SK, Foroud T, Nichols WC. Genome-wide scan for a healthy aging phenotype provides support for a locus near D4S1564 promoting healthy aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2004;59:227-232.
- (201) Geesaman BJ, Benson E, Brewster SJ et al. Haplotype-based identification of a microsomal transfer protein marker associated with the human lifespan. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:14115-14120.
- (202) Boyden SE, Kunkel LM. High-density genomewide linkage analysis of exceptional human longevity identifies multiple novel loci. *PLoS One.* 2010;5:e12432.
- (203) Kerber RA, O'Brien E, Boucher KM, Smith KR, Cawthon RM. A genome-wide study replicates linkage of 3p22-24 to extreme longevity in humans and identifies possible additional loci. *PLoS One.* 2012;7:e34746.

- (204) Edwards DR, Gilbert JR, Jiang L et al. Successful aging shows linkage to chromosomes 6, 7, and 14 in the Amish. *Ann Hum Genet.* 2011;75:516-528.
- (205) Edwards DR, Gilbert JR, Hicks JE et al. Linkage and association of successful aging to the 6q25 region in large Amish kindreds. *Age (Dordr).* 2013;35:1467-1477.
- (206) Terracciano A, Lockenhoff CE, Zonderman AB, Ferrucci L, Costa PT, Jr. Personality predictors of longevity: activity, emotional stability, and conscientiousness. *Psychosom Med.* 2008;70:621-627.
- (207) Bae HT, Sebastiani P, Sun JX et al. Genome-wide association study of personality traits in the long life family study. *Front Genet.* 2013;4:65. doi: 10.3389/fgene.2013.00065. eCollection;2013.:65.
- (208) Lunetta KL, D'Agostino RB, Sr., Karasik D et al. Genetic correlates of longevity and selected age-related phenotypes: a genome-wide association study in the Framingham Study. *BMC Med Genet.* 2007;8 Suppl 1:S13.:S13.
- (209) Kulminski AM, Culminskaya I. Genomics of human health and aging. *Age (Dordr).* 2013;35:455-469.
- (210) Yashin AI, Wu D, Arbeev KG, Ukraintseva SV. Joint influence of small-effect genetic variants on human longevity. *Aging (Albany NY).* 2010;2:612-620.
- (211) Beekman M, Nederstigt C, Suchiman HE et al. Genome-wide association study (GWAS)-identified disease risk alleles do not compromise human longevity. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107:18046-18049.
- (212) Mooijaart SP, van HD, Noordam R et al. Polymorphisms associated with type 2 diabetes in familial longevity: The Leiden Longevity Study. *Aging (Albany NY).* 2011;3:55-62.
- (213) Bergman A, Atzmon G, Ye K, MacCarthy T, Barzilai N. Buffering mechanisms in aging: a systems approach toward uncovering the genetic component of aging. *PLoS Comput Biol.* 2007;3:e170.
- (214) De BG, Carotenuto L, Carrieri G et al. Age-related changes of the 3'APOB-VNTR genotype pool in ageing cohorts. *Ann Hum Genet.* 1998;62:115-122.
- (215) Garasto S, Rose G, Derango F et al. The study of APOA1, APOC3 and APOA4 variability in healthy ageing people reveals another paradox in the oldest old subjects. *Ann Hum Genet.* 2003;67:54-62.
- (216) Huffman DM, Deelen J, Ye K et al. Distinguishing between longevity and buffered-deleterious genotypes for exceptional human longevity: the case of the MTP gene. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2012;67:1153-1160.
- (217) Rutherford SL, Lindquist S. Hsp90 as a capacitor for morphological evolution. *Nature.* 1998;396:336-342.
- (218) Ravikumar B, Sarkar S, Davies JE et al. Regulation of mammalian autophagy in physiology and pathophysiology. *Physiol Rev.* 2010;90:1383-1435.
- (219) Xie Z, Klionsky DJ. Autophagosome formation: core machinery and adaptations. *Nat Cell Biol.* 2007;9:1102-1109.
- (220) Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. Autophagy and aging. *Cell.* 2011;146:682-695.
- (221) Kroemer G, Levine B. Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9:1004-1010.

- (222) Zhang C, Cuervo AM. Restoration of chaperone-mediated autophagy in aging liver improves cellular maintenance and hepatic function. *Nat Med*. 2008;14:959-965.
- (223) Gottlieb RA, Mentzer RM. Autophagy during cardiac stress: joys and frustrations of autophagy. *Annu Rev Physiol*. 2010;72:45-59. doi: 10.1146/annurev-physiol-021909-135757.45-59.
- (224) Jiang M, Liu K, Luo J, Dong Z. Autophagy is a renoprotective mechanism during in vitro hypoxia and in vivo ischemia-reperfusion injury. *Am J Pathol*. 2010;176:1181-1192.
- (225) Melendez A, Talloczy Z, Seaman M, Eskelinen EL, Hall DH, Levine B. Autophagy genes are essential for dauer development and life-span extension in *C. elegans*. *Science*. 2003;301:1387-1391.
- (226) Colman RJ, Anderson RM, Johnson SC et al. Caloric restriction delays disease onset and mortality in rhesus monkeys. *Science*. 2009;325:201-204.
- (227) Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell*. 2008;132:27-42.
- (228) Egan DF, Shackelford DB, Mihaylova MM et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. *Science*. 2011;331:456-461.
- (229) Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan KL. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1. *Nat Cell Biol*. 2011;13:132-141.
- (230) Canto C, Jiang LQ, Deshmukh AS et al. Interdependence of AMPK and SIRT1 for metabolic adaptation to fasting and exercise in skeletal muscle. *Cell Metab*. 2010;11:213-219.
- (231) Kenyon CJ. The genetics of ageing. *Nature*. 2010;464:504-512.
- (232) He LQ, Lu JH, Yue ZY. Autophagy in ageing and ageing-associated diseases. *Acta Pharmacol Sin*. 2013;34:605-611.
- (233) Wang T, Lao U, Edgar BA. TOR-mediated autophagy regulates cell death in *Drosophila* neurodegenerative disease. *J Cell Biol*. 2009;186:703-711.
- (234) Twig G, Elorza A, Molina AJ et al. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *EMBO J*. 2008;27:433-446.
- (235) Vijg J, Campisi J. Puzzles, promises and a cure for ageing. *Nature*. 2008;454:1065-1071.
- (236) Wu JJ, Quijano C, Chen E et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress mediate the physiological impairment induced by the disruption of autophagy. *Aging (Albany NY)*. 2009;1:425-437.
- (237) Gautier CA, Kitada T, Shen J. Loss of PINK1 causes mitochondrial functional defects and increased sensitivity to oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105:11364-11369.
- (238) Lee JS, Li Q, Lee JY et al. FLIP-mediated autophagy regulation in cell death control. *Nat Cell Biol*. 2009;11:1355-1362.
- (239) Pattingre S, Tassa A, Qu X et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy. *Cell*. 2005;122:927-939.
- (240) Colell A, Ricci JE, Tait S et al. GAPDH and autophagy preserve survival after apoptotic cytochrome c release in the absence of caspase activation. *Cell*. 2007;129:983-997.

- (241) Sheng R, Zhang LS, Han R, Liu XQ, Gao B, Qin ZH. Autophagy activation is associated with neuroprotection in a rat model of focal cerebral ischemic preconditioning. *Autophagy*. 2010;6:482-494.
- (242) Le BE. Hormesis, aging and longevity. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790:1030-1039.
- (243) Harrison DE, Strong R, Sharp ZD et al. Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*. 2009;460:392-395.
- (244) Chen C, Liu Y, Liu Y, Zheng P. mTOR regulation and therapeutic rejuvenation of aging hematopoietic stem cells. *Sci Signal*. 2009;2:ra75.
- (245) Castilho RM, Squarize CH, Chodosh LA, Williams BO, Gutkind JS. mTOR mediates Wnt-induced epidermal stem cell exhaustion and aging. *Cell Stem Cell*. 2009;5:279-289.
- (246) Maiuri MC, Tasdemir E, Criollo A et al. Control of autophagy by oncogenes and tumor suppressor genes. *Cell Death Differ*. 2009;16:87-93.
- (247) Mathew R, Karp CM, Beaudoin B et al. Autophagy suppresses tumorigenesis through elimination of p62. *Cell*. 2009;137:1062-1075.
- (248) Young AR, Narita M, Ferreira M et al. Autophagy mediates the mitotic senescence transition. *Genes Dev*. 2009;23:798-803.
- (249) Elgendy M, Sheridan C, Brumatti G, Martin SJ. Oncogenic Ras-induced expression of Noxa and Beclin-1 promotes autophagic cell death and limits clonogenic survival. *Mol Cell*. 2011;42:23-35.
- (250) Levine B, Mizushima N, Virgin HW. Autophagy in immunity and inflammation. *Nature*. 2011;469:323-335.
- (251) Li Y, Wang LX, Yang G, Hao F, Urba WJ, Hu HM. Efficient cross-presentation depends on autophagy in tumor cells. *Cancer Res*. 2008;68:6889-6895.
- (252) Uhl M, Kepp O, Jusforgues-Saklani H, Vicencio JM, Kroemer G, Albert ML. Autophagy within the antigen donor cell facilitates efficient antigen cross-priming of virus-specific CD8+ T cells. *Cell Death Differ*. 2009;16:991-1005.
- (253) Jagannath C, Lindsey DR, Dhandayuthapani S, Xu Y, Hunter RL, Jr., Eissa NT. Autophagy enhances the efficacy of BCG vaccine by increasing peptide presentation in mouse dendritic cells. *Nat Med*. 2009;15:267-276.
- (254) Orvedahl A, Alexander D, Tallozy Z et al. HSV-1 ICP34.5 confers neurovirulence by targeting the Beclin 1 autophagy protein. *Cell Host Microbe*. 2007;1:23-35.
- (255) Saitoh T, Akira S. Regulation of innate immune responses by autophagy-related proteins. *J Cell Biol*. 2010;189:925-935.
- (256) Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VA et al. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat Immunol*. 2011;12:222-230.
- (257) Zhou R, Yazdi AS, Menu P, Tschopp J. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *Nature*. 2011;469:221-225.
- (258) Yang L, Li P, Fu S, Calay ES, Hotamisligil GS. Defective hepatic autophagy in obesity promotes ER stress and causes insulin resistance. *Cell Metab*. 2010;11:467-478.
- (259) Demontis F, Perrimon N. FOXO/4E-BP signaling in Drosophila muscles regulates organism-wide proteostasis during aging. *Cell*. 2010;143:813-825.

- (260) 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;4:176-184.
- (261) Rogina B, Helfand SL. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:15998-16003.
- (262) Madeo F, Tavernarakis N, Kroemer G. Can autophagy promote longevity? *Nat Cell Biol*. 2010;12:842-846.
- (263) Cuervo AM, Dice JF. Age-related decline in chaperone-mediated autophagy. *J Biol Chem*. 2000;275:31505-31513.
- (264) Matecic M, Smith DL, Pan X et al. A microarray-based genetic screen for yeast chronological aging factors. *PLoS Genet*. 2010;6:e1000921.
- (265) Korolchuk VI, Mansilla A, Menzies FM, Rubinsztein DC. Autophagy inhibition compromises degradation of ubiquitin-proteasome pathway substrates. *Mol Cell*. 2009;33:517-527.
- (266) Tasdemir E, Maiuri MC, Galluzzi L et al. Regulation of autophagy by cytoplasmic p53. *Nat Cell Biol*. 2008;10:676-687.
- (267) Singh R, Kaushik S, Wang Y et al. Autophagy regulates lipid metabolism. *Nature*. 2009;458:1131-1135.
- (268) Witte AV, Fobker M, Gellner R, Knecht S, Floel A. Caloric restriction improves memory in elderly humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106:1255-1260.
- (269) Mattson MP, Wan R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *J Nutr Biochem*. 2005;16:129-137.
- (270) Ciccia A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell*. 2010;40:179-204.
- (271) Bohr VA. Rising from the RecQ-age: the role of human RecQ helicases in genome maintenance. *Trends Biochem Sci*. 2008;33:609-620.
- (272) Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K, Linn S. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*. 2004;73:39-85.
- (273) az-Llera S, Podlutzky A, Osterholm AM, Hou SM, Lambert B. Hydrogen peroxide induced mutations at the HPRT locus in primary human T-lymphocytes. *Mutat Res*. 2000;469:51-61.
- (274) Anisimov VN. Mutant and genetically modified mice as models for studying the relationship between aging and carcinogenesis. *Mech Ageing Dev*. 2001;122:1221-1255.
- (275) Qin X, Zhang S, Matsukuma S et al. Protection against malignant progression of spontaneously developing liver tumors in transgenic mice expressing O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase. *Jpn J Cancer Res*. 2000;91:1085-1089.
- (276) Jiricny J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2006;7:335-346.
- (277) Skinner AM, Turker MS. Oxidative mutagenesis, mismatch repair, and aging. *Sci Aging Knowledge Environ*. 2005;2005:re3.

- (278) Ben YA, Globerson A, Krichevsky S et al. Ageing and the mismatch repair system. *Mech Ageing Dev.* 2000;121:173-179.
- (279) Krichevsky S, Pawelec G, Gural A et al. Age related microsatellite instability in T cells from healthy individuals. *Exp Gerontol.* 2004;39:507-515.
- (280) Hanawalt PC. Subpathways of nucleotide excision repair and their regulation. *Oncogene.* 2002;21:8949-8956.
- (281) Menck CF, Munford V. DNA repair diseases: What do they tell us about cancer and aging? *Genet Mol Biol.* 2014;37:220-233.
- (282) Boyle J, Kill IR, Parris CN. Heterogeneity of dimer excision in young and senescent human dermal fibroblasts. *Aging Cell.* 2005;4:247-255.
- (283) Christiansen M, Stevnsner T, Bohr VA, Clark BF, Rattan SI. Gene-specific DNA repair of pyrimidine dimers does not decline during cellular aging in vitro. *Exp Cell Res.* 2000;256:308-314.
- (284) Gorbunova V, Seluanov A, Mao Z, Hine C. Changes in DNA repair during aging. *Nucleic Acids Res.* 2007;35:7466-7474.
- (285) Gorbunova V, Seluanov A. Making ends meet in old age: DSB repair and aging. *Mech Ageing Dev.* 2005;126:621-628.
- (286) Karmakar P, Piotrowski J, Brosh RM, Jr. et al. Werner protein is a target of DNA-dependent protein kinase in vivo and in vitro, and its catalytic activities are regulated by phosphorylation. *J Biol Chem.* 2002;277:18291-18302.
- (287) Dolle ME, Giese H, Hopkins CL, Martus HJ, Hausdorff JM, Vijg J. Rapid accumulation of genome rearrangements in liver but not in brain of old mice. *Nat Genet.* 1997;17:431-434.
- (288) Leandro GS, Sykora P, Bohr VA. The impact of base excision DNA repair in age-related neurodegenerative diseases. *Mutat Res.* 2015;776:31-9. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2014.12.011. Epub;2015 Jan 4.:31-39.
- (289) Montecucco A, Biamonti G, Savini E, Focher F, Spadari S, Ciarrocchi G. DNA ligase I gene expression during differentiation and cell proliferation. *Nucleic Acids Res.* 1992;20:6209-6214.
- (290) Barja G. Free radicals and aging. *Trends Neurosci.* 2004;27:595-600.
- (291) Bohr VA, Anson RM. DNA damage, mutation and fine structure DNA repair in aging. *Mutat Res.* 1995;338:25-34.
- (292) Kujoth GC, Bradshaw PC, Haroon S, Prolla TA. The role of mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. *PLoS Genet.* 2007;3:e24.
- (293) Hickson ID. RecQ helicases: caretakers of the genome. *Nat Rev Cancer.* 2003;3:169-178.
- (294) Burtner CR, Kennedy BK. Progeria syndromes and ageing: what is the connection? *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11:567-578.
- (295) Croteau DL, Singh DK, Hoh FL, Lu H, Bohr VA. RECQL4 in genomic instability and aging. *Trends Genet.* 2012;28:624-631.
- (296) German J. Bloom's syndrome. XX. The first 100 cancers. *Cancer Genet Cytogenet.* 1997;93:100-106.

- (297) Chang S, Multani AS, Cabrera NG et al. Essential role of limiting telomeres in the pathogenesis of Werner syndrome. *Nat Genet.* 2004;36:877-882.
- (298) Mann MB, Hodges CA, Barnes E, Vogel H, Hassold TJ, Luo G. Defective sister-chromatid cohesion, aneuploidy and cancer predisposition in a mouse model of type II Rothmund-Thomson syndrome. *Hum Mol Genet.* 2005;14:813-825.
- (299) Hu Y, Raynard S, Sehorn MG et al. RECQL5/Recql5 helicase regulates homologous recombination and suppresses tumor formation via disruption of Rad51 presynaptic filaments. *Genes Dev.* 2007;21:3073-3084.
- (300) Harrigan JA, Wilson DM, III, Prasad R et al. The Werner syndrome protein operates in base excision repair and cooperates with DNA polymerase beta. *Nucleic Acids Res.* 2006;34:745-754.
- (301) Dietschy T, Shevelev I, Stagljar I. The molecular role of the Rothmund-Thomson-, RAPADILINO- and Baller-Gerold-gene product, RECQL4: recent progress. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64:796-802.
- (302) Szekely AM, Bleichert F, Numann A et al. Werner protein protects nonproliferating cells from oxidative DNA damage. *Mol Cell Biol.* 2005;25:10492-10506.
- (303) Yang YG, Frappart PO, Frappart L, Wang ZQ, Tong WM. A novel function of DNA repair molecule Nbs1 in terminal differentiation of the lens fibre cells and cataractogenesis. *DNA Repair (Amst).* 2006;5:885-893.
- (304) Cheng WH, von KC, Opresko PL et al. Linkage between Werner syndrome protein and the Mre11 complex via Nbs1. *J Biol Chem.* 2004;279:21169-21176.
- (305) Ozgenc A, Loeb LA. Current advances in unraveling the function of the Werner syndrome protein. *Mutat Res.* 2005;577:237-251.
- (306) Blackburn EH, Greider CW, Szostak JW. Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med.* 2006;12:1133-1138.
- (307) Campisi J, dda di FF. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8:729-740.
- (308) Lindsey J, McGill NI, Lindsey LA, Green DK, Cooke HJ. In vivo loss of telomeric repeats with age in humans. *Mutat Res.* 1991;256:45-48.
- (309) Slagboom PE, Droog S, Boomsma DI. Genetic determination of telomere size in humans: a twin study of three age groups. *Am J Hum Genet.* 1994;55:876-882.
- (310) Bakaysa SL, Mucci LA, Slagboom PE et al. Telomere length predicts survival independent of genetic influences. *Aging Cell.* 2007;6:769-774.
- (311) Kimura M, Hjelmborg JV, Gardner JP et al. Telomere length and mortality: a study of leukocytes in elderly Danish twins. *Am J Epidemiol.* 2008;167:799-806.
- (312) Njajou OT, Cawthon RM, Damcott CM et al. Telomere length is paternally inherited and is associated with parental lifespan. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:12135-12139.
- (313) Richardson RB. Ionizing radiation and aging: rejuvenating an old idea. *Aging (Albany NY).* 2009;1:887-902.
- (314) Martin GM. Genetic modulation of senescent phenotypes in Homo sapiens. *Cell.* 2005;120:523-532.
- (315) Kirkwood TB, Austad SN. Why do we age? *Nature.* 2000;408:233-238.

- (316) Kuningas M, Mooijaart SP, van HD, Zwaan BJ, Slagboom PE, Westendorp RG. Genes encoding longevity: from model organisms to humans. *Aging Cell*. 2008;7:270-280.
- (317) Lindahl T. Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature*. 1993;362:709-715.
- (318) Vijg J. Somatic mutations and aging: a re-evaluation. *Mutat Res*. 2000;447:117-135.
- (319) Cabelof DC, Ikeno Y, Nyska A et al. Haploinsufficiency in DNA polymerase beta increases cancer risk with age and alters mortality rate. *Cancer Res*. 2006;66:7460-7465.
- (320) Castro E, Edland SD, Lee L et al. Polymorphisms at the Werner locus: II. 1074Leu/Phe, 1367Cys/Arg, longevity, and atherosclerosis. *Am J Med Genet*. 2000;95:374-380.
- (321) Kim DJ, Yi SM, Lee SY et al. Association between the MLH1 gene and longevity. *Hum Genet*. 2006;119:353-354.
- (322) Soerensen M, Dato S, Tan Q et al. Human longevity and variation in GH/IGF-1/insulin signaling, DNA damage signaling and repair and pro/antioxidant pathway genes: cross sectional and longitudinal studies. *Exp Gerontol*. 2012;47:379-387.
- (323) Nebel A, Flachsbart F, Till A et al. A functional EXO1 promoter variant is associated with prolonged life expectancy in centenarians. *Mech Ageing Dev*. 2009;130:691-699.
- (324) Chen T, Dong B, Lu Z et al. A functional single nucleotide polymorphism in promoter of ATM is associated with longevity. *Mech Ageing Dev*. 2010;131:636-640.
- (325) Figarska SM, Vonk JM, Boezen HM. SIRT1 polymorphism, long-term survival and glucose tolerance in the general population. *PLoS One*. 2013;8:e58636.
- (326) Lescai F, Blanche H, Nebel A et al. Human longevity and 11p15.5: a study in 1321 centenarians. *Eur J Hum Genet*. 2009;17:1515-1519.
- (327) Albani D, Ateri E, Mazzuco S et al. Modulation of human longevity by SIRT3 single nucleotide polymorphisms in the prospective study "Treviso Longeva (TRELONG)". *Age (Dordr)*. 2014;36:469-478.
- (328) Wang K, Li M, Bucan M. Pathway-based approaches for analysis of genomewide association studies. *Am J Hum Genet*. 2007;81:1278-1283.
- (329) Guttmacher AE, Collins FS. Genomic medicine--a primer. *N Engl J Med*. 2002;347:1512-1520.
- (330) Forensic DNA tests and Hardy-Weinberg equilibrium. *Science*. 1991;253:1037-1041.
- (331) Venter JC, Adams MD, Myers EW et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291:1304-1351.
- (332) Sherry ST, Ward M, Sirotkin K. dbSNP-database for single nucleotide polymorphisms and other classes of minor genetic variation. *Genome Res*. 1999;9:677-679.
- (333) Caporaso NE. Why have we failed to find the low penetrance genetic constituents of common cancers? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11:1544-1549.
- (334) Tabor HK, Risch NJ, Myers RM. Candidate-gene approaches for studying complex genetic traits: practical considerations. *Nat Rev Genet*. 2002;3:391-397.
- (335) Genomes& maps/ATG16L1 gene.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=2241880 . 2015. Ref Type: Electronic Citation

- (336) Schmid D, Dengjel J, Schoor O, Stevanovic S, Munz C. Autophagy in innate and adaptive immunity against intracellular pathogens. *J Mol Med (Berl)*. 2006;84:194-202.
- (337) Deretic V. Autophagy as an immune defense mechanism. *Curr Opin Immunol*. 2006;18:375-382.
- (338) Rioux JD, Xavier RJ, Taylor KD et al. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat Genet*. 2007;39:596-604.
- (339) Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M et al. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol*. 2010;11:55-62.
- (340) Franke A, McGovern DP, Barrett JC et al. Genome-wide meta-analysis increases to 71 the number of confirmed Crohn's disease susceptibility loci. *Nat Genet*. 2010;42:1118-1125.
- (341) Kuballa P, Huett A, Rioux JD, Daly MJ, Xavier RJ. Impaired autophagy of an intracellular pathogen induced by a Crohn's disease associated ATG16L1 variant. *PLoS One*. 2008;3:e3391.
- (342) Prescott NJ, Fisher SA, Franke A et al. A nonsynonymous SNP in ATG16L1 predisposes to ileal Crohn's disease and is independent of CARD15 and IBD5. *Gastroenterology*. 2007;132:1665-1671.
- (343) Hampe J, Franke A, Rosenstiel P et al. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn disease in ATG16L1. *Nat Genet*. 2007;39:207-211.
- (344) Weersma RK, Zhernakova A, Nolte IM et al. ATG16L1 and IL23R are associated with inflammatory bowel diseases but not with celiac disease in the Netherlands. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:621-627.
- (345) Cheng JF, Ning YJ, Zhang W, Lu ZH, Lin L. T300A polymorphism of ATG16L1 and susceptibility to inflammatory bowel diseases: a meta-analysis. *World J Gastroenterol*. 2010;16:1258-1266.
- (346) Smolkova B, Bonassi S, Buocikova V et al. Genetic determinants of quantitative traits associated with cardiovascular disease risk. *Mutat Res*. 2015;778:18-25. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2015.05.005. Epub; 2015 May 15.:18-25.
- (347) Usategui-Martin R, Garcia-Aparicio J, Corral-Gudino L, Calero-Paniagua I, Del Pino-Montes J, Gonzalez SR. Polymorphisms in autophagy genes are associated with paget disease of bone. *PLoS One*. 2015;10:e0128984.
- (348) Genomes&maps ATG2B gene.
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=3759601 . 2015. Ref Type: Electronic Citation
- (349) Velikkakath AK, Nishimura T, Oita E, Ishihara N, Mizushima N. Mammalian Atg2 proteins are essential for autophagosome formation and important for regulation of size and distribution of lipid droplets. *Mol Biol Cell*. 2012;23:896-909.
- (350) Kang MR, Kim MS, Oh JE et al. Frameshift mutations of autophagy-related genes ATG2B, ATG5, ATG9B and ATG12 in gastric and colorectal cancers with microsatellite instability. *J Pathol*. 2009;217:702-706.

- (351) Buffen K, Oosting M, Quintin J et al. Autophagy controls BCG-induced trained immunity and the response to intravesical BCG therapy for bladder cancer. *PLoS Pathog.* 2014;10:e1004485.
- (352) Songane M, Kleinnijenhuis J, Alisjahbana B et al. Polymorphisms in autophagy genes and susceptibility to tuberculosis. *PLoS One.* 2012;7:e41618.
- (353) Karantza-Wadsworth V, Patel S, Kravchuk O et al. Autophagy mitigates metabolic stress and genome damage in mammary tumorigenesis. *Genes Dev.* 2007;21:1621-1635.
- (354) Harris AL. Hypoxia--a key regulatory factor in tumour growth. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:38-47.
- (355) Lu Z, Luo RZ, Lu Y et al. The tumor suppressor gene ARHI regulates autophagy and tumor dormancy in human ovarian cancer cells. *J Clin Invest.* 2008;118:3917-3929.
- (356) Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell.* 2006;10:51-64.
- (357) Genomes&maps ATG5. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=2245214 . 2015. Ref Type: Electronic Citation
- (358) Pyo JO, Nah J, Jung YK. Molecules and their functions in autophagy. *Exp Mol Med.* 2012;44:73-80.
- (359) Rubinsztein DC, Shpilka T, Elazar Z. Mechanisms of autophagosome biogenesis. *Curr Biol.* 2012;22:R29-R34.
- (360) Daroszewska A, van 't Hof RJ, Rojas JA et al. A point mutation in the ubiquitin-associated domain of SQSMT1 is sufficient to cause a Paget's disease-like disorder in mice. *Hum Mol Genet.* 2011;20:2734-2744.
- (361) Kim MS, Song SY, Lee JY, Yoo NJ, Lee SH. Expressional and mutational analyses of ATG5 gene in prostate cancers. *APMIS.* 2011;119:802-807.
- (362) Plantinga TS, van d, V, Huijbers A et al. Role of genetic variants of autophagy genes in susceptibility for non-medullary thyroid cancer and patients outcome. *PLoS One.* 2014;9:e94086.
- (363) Pyo JO, Yoo SM, Ahn HH et al. Overexpression of Atg5 in mice activates autophagy and extends lifespan. *Nat Commun.* 2013;4:2300. doi: 10.1038/ncomms3300.2300.
- (364) Gateva V, Sandling JK, Hom G et al. A large-scale replication study identifies TNIP1, PRDM1, JAZF1, UHRF1BP1 and IL10 as risk loci for systemic lupus erythematosus. *Nat Genet.* 2009;41:1228-1233.
- (365) Cai PP, Wang HX, Zhuang JC et al. Variants of autophagy-related gene 5 are associated with neuromyelitis optica in the Southern Han Chinese population. *Autoimmunity.* 2014;47:563-566.
- (366) Genomes&maps ATG10 gene. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1864183 . 2015. Ref Type: Electronic Citation
- (367) Mehrpour M, Esclatine A, Beau I, Codogno P. Overview of macroautophagy regulation in mammalian cells. *Cell Res.* 2010;20:748-762.

- (368) Jo YK, Kim SC, Park IJ et al. Increased expression of ATG10 in colorectal cancer is associated with lymphovascular invasion and lymph node metastasis. *PLoS One*. 2012;7:e52705.
- (369) Oga A, Kong G, Ishii Y, Izumi H, Park CY, Sasaki K. Preferential loss of 5q14-21 in intestinal-type gastric cancer with DNA aneuploidy. *Cytometry*. 2001;46:57-62.
- (370) Ramus SJ, Pharoah PD, Harrington P et al. BRCA1/2 mutation status influences somatic genetic progression in inherited and sporadic epithelial ovarian cancer cases. *Cancer Res*. 2003;63:417-423.
- (371) Shiraishi K, Okita K, Kusano N et al. A comparison of DNA copy number changes detected by comparative genomic hybridization in malignancies of the liver, biliary tract and pancreas. *Oncology*. 2001;60:151-161.
- (372) Mantripragada KK, az de ST, Patridge C et al. Genome-wide high-resolution analysis of DNA copy number alterations in NF1-associated malignant peripheral nerve sheath tumors using 32K BAC array. *Genes Chromosomes Cancer*. 2009;48:897-907.
- (373) Qin Z, Xue J, He Y et al. Potentially functional polymorphisms in ATG10 are associated with risk of breast cancer in a Chinese population. *Gene*. 2013;527:491-495.
- (374) Genomes&maps XRCC1. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1799782 . 2015. Ref Type: Electronic Citation
- (375) Chen D, Yu Z, Zhu Z, Lopez CD. E2F1 regulates the base excision repair gene XRCC1 and promotes DNA repair. *J Biol Chem*. 2008;283:15381-15389.
- (376) Tebbs RS, Flannery ML, Meneses JJ et al. Requirement for the Xrcc1 DNA base excision repair gene during early mouse development. *Dev Biol*. 1999;208:513-529.
- (377) Shen MR, Zdzienicka MZ, Mohrenweiser H, Thompson LH, Thelen MP. Mutations in hamster single-strand break repair gene XRCC1 causing defective DNA repair. *Nucleic Acids Res*. 1998;26:1032-1037.
- (378) Kang SY, Lee KG, Lee W et al. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 associated with basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the skin in a Korean population. *Cancer Sci*. 2007;98:716-720.
- (379) Wang H, Liu Z. Polymorphism of DNA repair gene xrc1 and lung cancer risk. *Cell Biochem Biophys*. 2014;70:1881-1886.
- (380) Zhou C, Zhou Y, Li J et al. The Arg194Trp polymorphism in the X-ray repair cross-complementing group 1 gene as a potential risk factor of oral cancer: a meta-analysis. *Tohoku J Exp Med*. 2009;219:43-51.
- (381) Xue H, Ni P, Lin B, Xu H, Huang G. X-ray repair cross-complementing group 1 (XRCC1) genetic polymorphisms and gastric cancer risk: A HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2011;173:363-375.
- (382) Gsur A, Bernhart K, Baierl A et al. No association of XRCC1 polymorphisms Arg194Trp and Arg399Gln with colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol*. 2011;35:e38-e41.
- (383) Sak SC, Barrett JH, Paul AB, Bishop DT, Kiltie AE. DNA repair gene XRCC1 polymorphisms and bladder cancer risk. *BMC Genet*. 2007;8:13.:13.
- (384) Zhang L, Yesupriya A, Hu DJ et al. Variants in ABCB1, TGFB1, and XRCC1 genes and susceptibility to viral hepatitis A infection in Mexican Americans. *Hepatology*. 2012;55:1008-1018.

- (385) Kwiatkowski D, Czarny P, Galecki P et al. Variants of Base Excision Repair Genes MUTYH , PARP1 and XRCC1 in Alzheimer's Disease Risk. *Neuropsychobiology*. 2015;71:176-186.
- (386) Coppede F, Migheli F, Lo GA et al. Association study between XRCC1 gene polymorphisms and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotroph Lateral Scler*. 2010;11:122-124.
- (387) Lin YJ, Wan L, Huang CM et al. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and associations with systemic lupus erythematosus risk in the Taiwanese Han Chinese population. *Lupus*. 2009;18:1246-1251.
- (388) Genomes&maps XPD/ERCC2. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=13181 . 2015. Ref Type: Electronic Citation
- (389) Ma L, Hoeijmakers JH, van der Eb AJ. Mammalian nucleotide excision repair. *Biochim Biophys Acta*. 1995;1242:137-163.
- (390) Sancar A. Excision repair in mammalian cells. *J Biol Chem*. 1995;270:15915-15918.
- (391) Qiao Y, Spitz MR, Shen H et al. Modulation of repair of ultraviolet damage in the host-cell reactivation assay by polymorphic XPC and XPD/ERCC2 genotypes. *Carcinogenesis*. 2002;23:295-299.
- (392) Spitz MR, Wu X, Wang Y et al. Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphisms in lung cancer patients. *Cancer Res*. 2001;61:1354-1357.
- (393) Mocellin S, Verdi D, Nitti D. DNA repair gene polymorphisms and risk of cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *Carcinogenesis*. 2009;30:1735-1743.
- (394) Mitra AK, Singh N, Garg VK, Chaturvedi R, Sharma M, Rath SK. Statistically significant association of the single nucleotide polymorphism (SNP) rs13181 (ERCC2) with predisposition to Squamous Cell Carcinomas of the Head and Neck (SCCHN) and Breast cancer in the north Indian population. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009;28:104. doi: 10.1186/1756-9966-28-104.:104-128.
- (395) Rouissi K, Bahria IB, Bougateg K et al. The effect of tobacco, XPC, ERCC2 and ERCC5 genetic variants in bladder cancer development. *BMC Cancer*. 2011;11:101. doi: 10.1186/1471-2407-11-101.:101-111.
- (396) Kean-Cowdin R, Barnholtz-Sloan J, Inskip PD et al. Associations between polymorphisms in DNA repair genes and glioblastoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18:1118-1126.
- (397) Agalliu I, Kwon EM, Salinas CA, Koopmeiners JS, Ostrander EA, Stanford JL. Genetic variation in DNA repair genes and prostate cancer risk: results from a population-based study. *Cancer Causes Control*. 2010;21:289-300.
- (398) Biason P, Hattinger CM, Innocenti F et al. Nucleotide excision repair gene variants and association with survival in osteosarcoma patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Pharmacogenomics J*. 2012;12:476-483.
- (399) Lopez-Cima MF, Gonzalez-Arriaga P, Garcia-Castro L et al. Polymorphisms in XPC, XPD, XRCC1, and XRCC3 DNA repair genes and lung cancer risk in a population of northern Spain. *BMC Cancer*. 2007;7:162.:162.

- (400) Yousaf S, Khan MI, Micheal S et al. XRCC1 and XPD DNA repair gene polymorphisms: a potential risk factor for glaucoma in the Pakistani population. *Mol Vis*. 2011;17:1153-63. Epub; %2011 May 4.:1153-1163.
- (401) Wan L, Lin YJ, Sheu JJ et al. Analysis of ERCC2/XPD functional polymorphisms in systemic lupus erythematosus. *Int J Immunogenet*. 2009;36:33-37.
- (402) Wang Y, Reed M, Wang P et al. p53 domains: identification and characterization of two autonomous DNA-binding regions. *Genes Dev*. 1993;7:2575-2586.
- (403) Stenger JE, Mayr GA, Mann K, Tegtmeyer P. Formation of stable p53 homotetramers and multiples of tetramers. *Mol Carcinog*. 1992;5:102-106.
- (404) Wang P, Reed M, Wang Y et al. p53 domains: structure, oligomerization, and transformation. *Mol Cell Biol*. 1994;14:5182-5191.
- (405) Chowdary DR, Dermody JJ, Jha KK, Ozer HL. Accumulation of p53 in a mutant cell line defective in the ubiquitin pathway. *Mol Cell Biol*. 1994;14:1997-2003.
- (406) Hainaut P, Wiman KG. 30 years and a long way into p53 research. *Lancet Oncol*. 2009;10:913-919.
- (407) Genomes&maps TP53. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1042522 . 2015. Ref Type: Electronic Citation
- (408) Pietsch EC, Humbey O, Murphy ME. Polymorphisms in the p53 pathway. *Oncogene*. 2006;25:1602-1611.
- (409) Reinisch W, Panes J, Lemann M et al. A multicenter, randomized, double-blind trial of everolimus versus azathioprine and placebo to maintain steroid-induced remission in patients with moderate-to-severe active Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2008;103:2284-2292.
- (410) Sakamuro D, Sabbatini P, White E, Prendergast GC. The polyproline region of p53 is required to activate apoptosis but not growth arrest. *Oncogene*. 1997;15:887-898.
- (411) Dumont P, Leu JI, Della PA, III, George DL, Murphy M. The codon 72 polymorphic variants of p53 have markedly different apoptotic potential. *Nat Genet*. 2003;33:357-365.
- (412) Matlashewski GJ, Tuck S, Pim D, Lamb P, Schneider J, Crawford LV. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human p53. *Mol Cell Biol*. 1987;7:961-963.
- (413) Matlashewski G, Pim D, Banks L, Crawford L. Alternative splicing of human p53 transcripts. *Oncogene Res*. 1987;1:77-85.
- (414) Zhang X, Miao X, Guo Y et al. Genetic polymorphisms in cell cycle regulatory genes MDM2 and TP53 are associated with susceptibility to lung cancer. *Hum Mutat*. 2006;27:110-117.
- (415) Hu S, Zhao L, Yang J, Hu M. The association between polymorphism of P53 Codon72 Arg/Pro and hepatocellular carcinoma susceptibility: evidence from a meta-analysis of 15 studies with 3,704 cases. *Tumour Biol*. 2014;35:3647-3656.
- (416) Han JY, Lee GK, Jang DH, Lee SY, Lee JS. Association of p53 codon 72 polymorphism and MDM2 SNP309 with clinical outcome of advanced nonsmall cell lung cancer. *Cancer*. 2008;113:799-807.

- (417) Kim JG, Sohn SK, Chae YS et al. TP53 codon 72 polymorphism associated with prognosis in patients with advanced gastric cancer treated with paclitaxel and cisplatin. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2009;64:355-360.
- (418) Klug SJ, Rensing M, Koenig J et al. TP53 codon 72 polymorphism and cervical cancer: a pooled analysis of individual data from 49 studies. *Lancet Oncol*. 2009;10:772-784.
- (419) Dahabreh IJ, Linardou H, Bouzika P, Varvarigou V, Murray S. TP53 Arg72Pro polymorphism and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;19:1840-1847.
- (420) Bojesen SE, Nordestgaard BG. The common germline Arg72Pro polymorphism of p53 and increased longevity in humans. *Cell Cycle*. 2008;7:158-163.
- (421) Di PF, Dato S, Carpi FM et al. TP53*P72 allele influences negatively female life expectancy in a population of central Italy: cross-sectional study and genetic-demographic approach analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013;68:539-545.
- (422) Burgdorf KS, Grarup N, Justesen JM et al. Studies of the association of Arg72Pro of tumor suppressor protein p53 with type 2 diabetes in a combined analysis of 55,521 Europeans. *PLoS One*. 2011;6:e15813.
- (423) Caamano J, Saavedra N, Jaramillo PC, Lanás C, Lanás F, Salazar LA. TP53 codon 72 polymorphism is associated with coronary artery disease in Chilean subjects. *Med Princ Pract*. 2011;20:171-176.
- (424) Huang Y, Zong L, Lin J et al. [Association of P53 gene polymorphisms with susceptibility to endometriosis]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. 2013;30:335-339.
- (425) Pastor-Idoate S, Rodríguez-Hernández I, Rojas J et al. The p53 codon 72 polymorphism (rs1042522) is associated with proliferative vitreoretinopathy: the Retina 4 Project. *Ophthalmology*. 2013;120:623-628.
- (426) Chumlea WC, Roche AF, Steinbaugh ML. Estimating stature from knee height for persons 60 to 90 years of age. *J Am Geriatr Soc*. 1985;33:116-120.
- (427) Pfeiffer E. A short portable mental status questionnaire for the assessment of organic brain deficit in elderly patients. *J Am Geriatr Soc*. 1975;23:433-441.
- (428) Ware J, Jr., Kosinski M, Keller SD. A 12-Item Short-Form Health Survey: construction of scales and preliminary tests of reliability and validity. *Med Care*. 1996;34:220-233.
- (429) Ramsay SE, Arianayagam DS, Whincup PH et al. Cardiovascular risk profile and frailty in a population-based study of older British men. *Heart*. 2015;101:616-622.
- (430) Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis*. 1987;40:373-383.
- (431) Levine SK, Sachs GA, Jin L, Meltzer D. A prognostic model for 1-year mortality in older adults after hospital discharge. *Am J Med*. 2007;120:455-460.
- (432) Bernabeu-Wittel M, Ollero-Baturone M, Moreno-Gavino L et al. Development of a new predictive model for polypathological patients. The PROFUND index. *Eur J Intern Med*. 2011;22:311-317.
- (433) McAvoy JW, Chamberlain CG, de Longh RU, Hales AM, Lovicu FJ. Lens development. *Eye (Lond)*. 1999;13:425-437.

- (434) Cvekl A, Shery-Padan R. The cellular and molecular mechanisms of vertebrate lens development. *Development*. 2014;141:4432-4447.
- (435) Michael R, Bron AJ. The ageing lens and cataract: a model of normal and pathological ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011;366:1278-1292.
- (436) van LK, Duvoisin RM, Engelhardt H, Wiedmann M. A function for lipoxygenase in programmed organelle degradation. *Nature*. 1998;395:392-395.
- (437) Caceres A, Shang F, Wawrousek E et al. Perturbing the ubiquitin pathway reveals how mitosis is hijacked to denucleate and regulate cell proliferation and differentiation in vivo. *PLoS One*. 2010;5:e13331.
- (438) Chaffee BR, Shang F, Chang ML et al. Nuclear removal during terminal lens fiber cell differentiation requires CDK1 activity: appropriating mitosis-related nuclear disassembly. *Development*. 2014;141:3388-3398.
- (439) Walton J, McAvoy J. Sequential structural response of lens epithelium to retina-conditioned medium. *Exp Eye Res*. 1984;39:217-229.
- (440) Menko AS, Klukas KA, Johnson RG. Chicken embryo lens cultures mimic differentiation in the lens. *Dev Biol*. 1984;103:129-141.
- (441) Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, Yoshimori T, Ohsumi Y. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Mol Biol Cell*. 2004;15:1101-1111.
- (442) Matsui M, Yamamoto A, Kuma A, Ohsumi Y, Mizushima N. Organelle degradation during the lens and erythroid differentiation is independent of autophagy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;339:485-489.
- (443) Morishita H, Eguchi S, Kimura H et al. Deletion of autophagy-related 5 (Atg5) and Pik3c3 genes in the lens causes cataract independent of programmed organelle degradation. *J Biol Chem*. 2013;288:11436-11447.
- (444) Wignes JA, Goldman JW, Weihl CC, Bartley MG, Andley UP. p62 expression and autophagy in alphaB-crystallin R120G mutant knock-in mouse model of hereditary cataract. *Exp Eye Res*. 2013;115:263-73. doi: 10.1016/j.exer.2013.06.026. Epub;2013 Jul 18.:263-273.
- (445) Costello MJ, Brennan LA, Basu S et al. Autophagy and mitophagy participate in ocular lens organelle degradation. *Exp Eye Res*. 2013;116:141-50. doi: 10.1016/j.exer.2013.08.017. Epub;2013 Sep 4.:141-150.
- (446) Nishimoto S, Kawane K, Watanabe-Fukunaga R et al. Nuclear cataract caused by a lack of DNA degradation in the mouse eye lens. *Nature*. 2003;424:1071-1074.
- (447) Iida A, Tabata Y, Baba Y, Fujii T, Watanabe S. Critical roles of DNase1l3l in lens nuclear degeneration in zebrafish. *Biochimie*. 2014;106:68-74. doi: 10.1016/j.biochi.2014.07.025. Epub;2014 Aug 13.:68-74.
- (448) Nishida Y, Arakawa S, Fujitani K et al. Discovery of Atg5/Atg7-independent alternative macroautophagy. *Nature*. 2009;461:654-658.
- (449) Basu S, Rajakaruna S, Reyes B, Van BE, Menko AS. Suppression of MAPK/JNK-MTORC1 signaling leads to premature loss of organelles and nuclei by autophagy during terminal differentiation of lens fiber cells. *Autophagy*. 2014;10:1193-1211.

- (450) Andley UP, Hamilton PD, Ravi N, Weihl CC. A knock-in mouse model for the R120G mutation of alphaB-crystallin recapitulates human hereditary myopathy and cataracts. *PLoS One*. 2011;6:e17671.
- (451) Andley UP, Goldman JW. Autophagy and UPR in alpha-crystallin mutant knock-in mouse models of hereditary cataracts. *Biochim Biophys Acta*. 2015;10.
- (452) Mizushima N, Komatsu M. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell*. 2011;147:728-741.
- (453) Chauss D, Basu S, Rajakaruna S et al. Differentiation state-specific mitochondrial dynamic regulatory networks are revealed by global transcriptional analysis of the developing chicken lens. *G3 (Bethesda)*. 2014;4:1515-1527.
- (454) Chen J, Ma Z, Jiao X et al. Mutations in FYCO1 cause autosomal-recessive congenital cataracts. *Am J Hum Genet*. 2011;88:827-838.
- (455) Brennan LA, Kantorow WL, Chauss D et al. Spatial expression patterns of autophagy genes in the eye lens and induction of autophagy in lens cells. *Mol Vis*. 2012;18:1773-86. Epub;2012 Jun 30.:1773-1786.
- (456) Pankiv S, Alemu EA, Brech A et al. FYCO1 is a Rab7 effector that binds to LC3 and PI3P to mediate microtubule plus end-directed vesicle transport. *J Cell Biol*. 2010;188:253-269.
- (457) Mrakovic A, Kay JG, Furuya W, Brumell JH, Botelho RJ. Rab7 and Arl8 GTPases are necessary for lysosome tubulation in macrophages. *Traffic*. 2012;13:1667-1679.
- (458) Raiborg C, Wenzel EM, Pedersen NM et al. Repeated ER-endosome contacts promote endosome translocation and neurite outgrowth. *Nature*. 2015;520:234-238.
- (459) Shiels A, Bennett TM, Knopf HL et al. CHMP4B, a novel gene for autosomal dominant cataracts linked to chromosome 20q. *Am J Hum Genet*. 2007;81:596-606.
- (460) Raiborg C, Stenmark H. The ESCRT machinery in endosomal sorting of ubiquitylated membrane proteins. *Nature*. 2009;458:445-452.
- (461) Du X, Kazim AS, Dawes IW, Brown AJ, Yang H. The AAA ATPase VPS4/SKD1 regulates endosomal cholesterol trafficking independently of ESCRT-III. *Traffic*. 2013;14:107-119.
- (462) Sagona AP, Nezis IP, Pedersen NM et al. PtdIns(3)P controls cytokinesis through KIF13A-mediated recruitment of FYVE-CENT to the midbody. *Nat Cell Biol*. 2010;12:362-371.
- (463) Vietri M, Schink KO, Campsteijn C et al. Spastin and ESCRT-III coordinate mitotic spindle disassembly and nuclear envelope sealing. *Nature*. 2015;522:231-235.
- (464) Sagona AP, Nezis IP, Stenmark H. Association of CHMP4B and autophagy with micronuclei: implications for cataract formation. *Biomed Res Int*. 2014;2014:974393. doi: 10.1155/2014/974393. Epub;2014 Mar 11.:974393.
- (465) De Meyer GR, Martinet W. Autophagy in the cardiovascular system. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1793:1485-1495.
- (466) Nakai A, Yamaguchi O, Takeda T et al. The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress. *Nat Med*. 2007;13:619-624.
- (467) Martinet W, De Meyer GR. Autophagy in atherosclerosis: a cell survival and death phenomenon with therapeutic potential. *Circ Res*. 2009;104:304-317.

- (468) Tabas I. Macrophage death and defective inflammation resolution in atherosclerosis. *Nat Rev Immunol*. 2010;10:36-46.
- (469) Moore KJ, Tabas I. Macrophages in the pathogenesis of atherosclerosis. *Cell*. 2011;145:341-355.
- (470) Liao X, Sluimer JC, Wang Y et al. Macrophage autophagy plays a protective role in advanced atherosclerosis. *Cell Metab*. 2012;15:545-553.
- (471) Razani B, Feng C, Coleman T et al. Autophagy links inflammasomes to atherosclerotic progression. *Cell Metab*. 2012;15:534-544.
- (472) Ouimet M, Franklin V, Mak E, Liao X, Tabas I, Marcel YL. Autophagy regulates cholesterol efflux from macrophage foam cells via lysosomal acid lipase. *Cell Metab*. 2011;13:655-667.
- (473) Verheye S, Martinet W, Kockx MM et al. Selective clearance of macrophages in atherosclerotic plaques by autophagy. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:706-715.
- (474) Palmerini T, Biondi-Zoccai G, Della RD et al. Stent thrombosis with drug-eluting stents: is the paradigm shifting? *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1915-1921.
- (475) Martinet W, Verheye S, De M, I et al. Everolimus triggers cytokine release by macrophages: rationale for stents eluting everolimus and a glucocorticoid. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:1228-1235.
- (476) Magne J, Gustafsson P, Jin H et al. ATG16L1 Expression in Carotid Atherosclerotic Plaques Is Associated With Plaque Vulnerability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35:1226-1235.
- (477) Saitoh T, Fujita N, Jang MH et al. Loss of the autophagy protein Atg16L1 enhances endotoxin-induced IL-1 β production. *Nature*. 2008;456:264-268.
- (478) Willems S, Vink A, Bot I et al. Mast cells in human carotid atherosclerotic plaques are associated with intraplaque microvessel density and the occurrence of future cardiovascular events. *Eur Heart J*. 2013;34:3699-3706.
- (479) Bot I, Shi GP, Kovanen PT. Mast cells as effectors in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35:265-271.
- (480) Ushio H, Ueno T, Kojima Y et al. Crucial role for autophagy in degranulation of mast cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127:1267-1276.
- (481) Bamford J, Sandercock P, Dennis M et al. A prospective study of acute cerebrovascular disease in the community: the Oxfordshire Community Stroke Project 1981-86. 1. Methodology, demography and incident cases of first-ever stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1988;51:1373-1380.
- (482) Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. *Neuron*. 2003;39:889-909.
- (483) Devine MJ, Gwinn K, Singleton A, Hardy J. Parkinson's disease and alpha-synuclein expression. *Mov Disord*. 2011;26:2160-2168.
- (484) Cuervo AM, Stefanis L, Fredenburg R, Lansbury PT, Sulzer D. Impaired degradation of mutant alpha-synuclein by chaperone-mediated autophagy. *Science*. 2004;305:1292-1295.
- (485) Pan T, Kondo S, Le W, Jankovic J. The role of autophagy-lysosome pathway in neurodegeneration associated with Parkinson's disease. *Brain*. 2008;131:1969-1978.

- (486) Xilouri M, Vogiatzi T, Vekrellis K, Park D, Stefanis L. Abberant alpha-synuclein confers toxicity to neurons in part through inhibition of chaperone-mediated autophagy. *PLoS One*. 2009;4:e5515.
- (487) varez-Erviti L, Rodriguez-Oroz MC, Cooper JM et al. Chaperone-mediated autophagy markers in Parkinson disease brains. *Arch Neurol*. 2010;67:1464-1472.
- (488) Yu WH, Dorado B, Figueroa HY et al. Metabolic activity determines efficacy of macroautophagic clearance of pathological oligomeric alpha-synuclein. *Am J Pathol*. 2009;175:736-747.
- (489) Xilouri M, Stefanis L. Autophagic pathways in Parkinson disease and related disorders. *Expert Rev Mol Med*. 2011;13:e8. doi: 10.1017/S1462399411001803..e8.
- (490) Zhu X, Siedlak SL, Smith MA, Perry G, Chen SG. LRRK2 protein is a component of Lewy bodies. *Ann Neurol*. 2006;60:617-618.
- (491) Lichtenberg M, Mansilla A, Zecchini VR, Fleming A, Rubinsztein DC. The Parkinson's disease protein LRRK2 impairs proteasome substrate clearance without affecting proteasome catalytic activity. *Cell Death Dis*. 2011;2:e196. doi: 10.1038/cddis.2011.81..e196.
- (492) Alegre-Abarrategui J, Christian H, Lufino MM et al. LRRK2 regulates autophagic activity and localizes to specific membrane microdomains in a novel human genomic reporter cellular model. *Hum Mol Genet*. 2009;18:4022-4034.
- (493) Gasser T. Molecular pathogenesis of Parkinson disease: insights from genetic studies. *Expert Rev Mol Med*. 2009;11:e22. doi: 10.1017/S1462399409001148..e22.
- (494) Yao Z, Wood NW. Cell death pathways in Parkinson's disease: role of mitochondria. *Antioxid Redox Signal*. 2009;11:2135-2149.
- (495) Narendra D, Tanaka A, Suen DF, Youle RJ. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol*. 2008;183:795-803.
- (496) Michiorri S, Gelmetti V, Giarda E et al. The Parkinson-associated protein PINK1 interacts with Beclin1 and promotes autophagy. *Cell Death Differ*. 2010;17:962-974.
- (497) Marazziti D, Di PC, Golini E, Mandillo S, Matteoni R, Tocchini-Valentini GP. Induction of macroautophagy by overexpression of the Parkinson's disease-associated GPR37 receptor. *FASEB J*. 2009;23:1978-1987.
- (498) Santner A, Uversky VN. Metalloproteomics and metal toxicology of alpha-synuclein. *Metallomics*. 2010;2:378-392.
- (499) Hozumi I, Hasegawa T, Honda A et al. Patterns of levels of biological metals in CSF differ among neurodegenerative diseases. *J Neurol Sci*. 2011;303:95-99.
- (500) Pall HS, Williams AC, Blake DR et al. Raised cerebrospinal-fluid copper concentration in Parkinson's disease. *Lancet*. 1987;2:238-241.
- (501) Gorell JM, Johnson CC, Rybicki BA et al. Occupational exposures to metals as risk factors for Parkinson's disease. *Neurology*. 1997;48:650-658.
- (502) Dexter DT, Wells FR, Lees AJ et al. Increased nigral iron content and alterations in other metal ions occurring in brain in Parkinson's disease. *J Neurochem*. 1989;52:1830-1836.
- (503) Kim BE, Nevitt T, Thiele DJ. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation. *Nat Chem Biol*. 2008;4:176-185.

- (504) Gaier ED, Eipper BA, Mains RE. Copper signaling in the mammalian nervous system: synaptic effects. *J Neurosci Res.* 2013;91:2-19.
- (505) Anandhan A, Rodriguez-Rocha H, Bohovych I et al. Overexpression of alpha-synuclein at non-toxic levels increases dopaminergic cell death induced by copper exposure via modulation of protein degradation pathways. *Neurobiol Dis.* 2014;10.
- (506) Hirsch EC, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *Lancet Neurol.* 2009;8:382-397.
- (507) Criollo A, Chereau F, Malik SA et al. Autophagy is required for the activation of NFkappaB. *Cell Cycle.* 2012;11:194-199.
- (508) Jounai N, Takeshita F, Kobiyama K et al. The Atg5 Atg12 conjugate associates with innate antiviral immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2007;104:14050-14055.
- (509) Miller BC, Zhao Z, Stephenson LM et al. The autophagy gene ATG5 plays an essential role in B lymphocyte development. *Autophagy.* 2008;4:309-314.
- (510) Zhao Z, Fux B, Goodwin M et al. Autophagosome-independent essential function for the autophagy protein Atg5 in cellular immunity to intracellular pathogens. *Cell Host Microbe.* 2008;4:458-469.
- (511) Mizushima N, Kuma A, Kobayashi Y et al. Mouse Apg16L, a novel WD-repeat protein, targets to the autophagic isolation membrane with the Apg12-Apg5 conjugate. *J Cell Sci.* 2003;116:1679-1688.
- (512) Mizushima N, Yoshimori T, Ohsumi Y. The role of Atg proteins in autophagosome formation. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2011;27:107-32. doi: 10.1146/annurev-cellbio-092910-154005. Epub;2011 Jul 18.:107-132.
- (513) Kuma A, Hatano M, Matsui M et al. The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature.* 2004;432:1032-1036.
- (514) Hara T, Nakamura K, Matsui M et al. Suppression of basal autophagy in neural cells causes neurodegenerative disease in mice. *Nature.* 2006;441:885-889.
- (515) Nishiyama J, Miura E, Mizushima N, Watanabe M, Yuzaki M. Aberrant membranes and double-membrane structures accumulate in the axons of Atg5-null Purkinje cells before neuronal death. *Autophagy.* 2007;3:591-596.
- (516) Chae M, Rhee GS, Jang IS et al. ATG5 expression induced by MDMA (ecstasy), interferes with neuronal differentiation of neuroblastoma cells. *Mol Cells.* 2009;27:571-575.
- (517) Vazquez P, Arroba AI, Cecconi F, de la Rosa EJ, Boya P, de PF. Atg5 and Ambra1 differentially modulate neurogenesis in neural stem cells. *Autophagy.* 2012;8:187-199.
- (518) Sinha RA, You SH, Zhou J et al. Thyroid hormone stimulates hepatic lipid catabolism via activation of autophagy. *J Clin Invest.* 2012;122:2428-2438.
- (519) Chen D, Zhu C, Wang X et al. A novel and functional variant within the ATG5 gene promoter in sporadic Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2013;538:49-53. doi: 10.1016/j.neulet.2013.01.044. Epub;2013 Feb 4.:49-53.
- (520) Friedman LG, Lachenmayer ML, Wang J et al. Disrupted autophagy leads to dopaminergic axon and dendrite degeneration and promotes presynaptic accumulation of alpha-synuclein and LRRK2 in the brain. *J Neurosci.* 2012;32:7585-7593.

- (521) Sladek R, Rocheleau G, Rung J et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007;445:881-885.
- (522) Carter JS, Pugh JA, Monterrosa A. Non-insulin-dependent diabetes mellitus in minorities in the United States. *Ann Intern Med*. 1996;125:221-232.
- (523) Harris MI, Flegal KM, Cowie CC et al. Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care*. 1998;21:518-524.
- (524) Klein BE, Klein R, Moss SE, Cruickshanks KJ. Parental history of diabetes in a population-based study. *Diabetes Care*. 1996;19:827-830.
- (525) Barnett AH, Eff C, Leslie RD, Pyke DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia*. 1981;20:87-93.
- (526) Saxena R, Voight BF, Lyssenko V et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*. 2007;316:1331-1336.
- (527) Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM et al. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science*. 2007;316:1336-1341.
- (528) Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir I et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2006;38:320-323.
- (529) Rosengren AH, Jokubka R, Tojjar D et al. Overexpression of alpha2A-adrenergic receptors contributes to type 2 diabetes. *Science*. 2010;327:217-220.
- (530) Froguel P, Zouali H, Vionnet N et al. Familial hyperglycemia due to mutations in glucokinase. Definition of a subtype of diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;328:697-702.
- (531) Stoffers DA, Ferrer J, Clarke WL, Habener JF. Early-onset type-II diabetes mellitus (MODY4) linked to IPF1. *Nat Genet*. 1997;17:138-139.
- (532) Groop LC, Kankuri M, Schalin-Jantti C et al. Association between polymorphism of the glycogen synthase gene and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;328:10-14.
- (533) Yamagata K, Oda N, Kaisaki PJ et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Nature*. 1996;384:455-458.
- (534) Yamagata K, Furuta H, Oda N et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature*. 1996;384:458-460.
- (535) Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H et al. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature*. 1998;391:900-904.
- (536) Walston J, Silver K, Bogardus C et al. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the beta 3-adrenergic-receptor gene. *N Engl J Med*. 1995;333:343-347.
- (537) Deeb SS, Fajas L, Nemoto M et al. A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet*. 1998;20:284-287.

- (538) Zhang Y, Ye M, Chen LJ, Li M, Tang Z, Wang C. Role of the ubiquitin-proteasome system and autophagy in regulation of insulin sensitivity in serum-starved 3T3-L1 adipocytes. *Endocr J*. 2015;62:673-686.
- (539) Kruse R, Vind BF, Petersson SJ, Kristensen JM, Hojlund K. Markers of autophagy are adapted to hyperglycaemia in skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2015;58:2087-2095.
- (540) Ezaki J, Matsumoto N, Takeda-Ezaki M et al. Liver autophagy contributes to the maintenance of blood glucose and amino acid levels. *Autophagy*. 2011;7:727-736.
- (541) Hua F, Hu ZW. TRIB3-P62 interaction, diabetes and autophagy. *Oncotarget*. 2015;10.
- (542) Wing SS. The UPS in diabetes and obesity. *BMC Biochem*. 2008;9 Suppl 1:S6. doi: 10.1186/1471-2091-9-S1-S6.:S6-S9.
- (543) Yin JJ, Li YB, Wang Y et al. The role of autophagy in endoplasmic reticulum stress-induced pancreatic beta cell death. *Autophagy*. 2012;8:158-164.
- (544) Zhang C, He Y, Okutsu M et al. Autophagy is involved in adipogenic differentiation by repressing proteasome-dependent PPARgamma2 degradation. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2013;305:E530-E539.
- (545) Heckmann BL, Yang X, Zhang X, Liu J. The autophagic inhibitor 3-methyladenine potently stimulates PKA-dependent lipolysis in adipocytes. *Br J Pharmacol*. 2013;168:163-171.
- (546) Singh R, Xiang Y, Wang Y et al. Autophagy regulates adipose mass and differentiation in mice. *J Clin Invest*. 2009;119:3329-3339.
- (547) Yoshizaki T, Kusunoki C, Kondo M et al. Autophagy regulates inflammation in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;417:352-357.
- (548) King P, Peacock I, Donnelly R. The UK Prospective Diabetes Study (UKPDS): clinical and therapeutic implications for type 2 diabetes. *Br J Clin Pharmacol*. 1999;48:643-648.
- (549) Buch SC, Diergaarde B, Nukui T et al. Genetic variability in DNA repair and cell cycle control pathway genes and risk of smoking-related lung cancer. *Mol Carcinog*. 2012;51 Suppl 1:E11-20. doi: 10.1002/mc.20858. Epub;2011 Oct 4.:E11-E20.
- (550) Dutra AV, Lin HF, Juo SH, Mohrenweiser H, Sen S, Grewal RP. Analysis of the XRCC1 gene as a modifier of the cerebral response in ischemic stroke. *BMC Med Genet*. 2006;7:78.:78.
- (551) Batar B, Guven M, Onaran I, Tutluoglu B, Kanigur-Sultuybek G. DNA repair gene XRCC1 polymorphisms and the risk of asthma in a Turkish population. *Allergy Asthma Proc*. 2010;31:349-354.
- (552) Yang SF, Xu YJ, Xie JG, Zhang ZX. hOGG1 Ser326Cys and XRCC1 Arg399Gln polymorphisms associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Chin Med J (Engl)*. 2009;20:960-966.
- (553) Warchol T, Mostowska A, Lianeri M, Lacki JK, Jagodzinski PP. XRCC1 Arg399Gln gene polymorphism and the risk of systemic lupus erythematosus in the Polish population. *DNA Cell Biol*. 2012;31:50-56.
- (554) Xie J, Yang S, Xu Y, Zhang Z. XRCC1 Arg194Trp polymorphism and risk of chronic obstructive pulmonary disease. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2009;29:551-556.

- (555) Kellenberger S, Gautschi I, Rossier BC, Schild L. Mutations causing Liddle syndrome reduce sodium-dependent downregulation of the epithelial sodium channel in the *Xenopus oocyte* expression system. *J Clin Invest*. 1998;101:2741-2750.
- (556) Gordon RD. Syndrome of hypertension and hyperkalemia with normal glomerular filtration rate. *Hypertension*. 1986;8:93-102.
- (557) Lifton RP, Gharavi AG, Geller DS. Molecular mechanisms of human hypertension. *Cell*. 2001;104:545-556.
- (558) Niu W, Qi Y, Cen W et al. Genetic polymorphisms of angiotensinogen and essential hypertension in a Tibetan population. *Hypertens Res*. 2007;30:1129-1137.
- (559) Rana BK, Insel PA, Payne SH et al. Population-based sample reveals gene-gender interactions in blood pressure in White Americans. *Hypertension*. 2007;49:96-106.
- (560) Taal HR, Verwoert GC, Demirkan A et al. Genome-wide profiling of blood pressure in adults and children. *Hypertension*. 2012;59:241-247.
- (561) Kupper N, Willemsen G, Riese H, Posthuma D, Boomsma DI, de Geus EJ. Heritability of daytime ambulatory blood pressure in an extended twin design. *Hypertension*. 2005;45:80-85.
- (562) Woolfson RG, de Wardener HE. Primary renal abnormalities in hereditary hypertension. *Kidney Int*. 1996;50:717-731.
- (563) Curtis JJ, Luke RG, Dustan HP et al. Remission of essential hypertension after renal transplantation. *N Engl J Med*. 1983;309:1009-1015.
- (564) Guidi E, Menghetti D, Milani S, Montagnino G, Palazzi P, Bianchi G. Hypertension may be transplanted with the kidney in humans: a long-term historical prospective follow-up of recipients grafted with kidneys coming from donors with or without hypertension in their families. *J Am Soc Nephrol*. 1996;7:1131-1138.
- (565) Crowley SD, Gurley SB, Oliverio MI et al. Distinct roles for the kidney and systemic tissues in blood pressure regulation by the renin-angiotensin system. *J Clin Invest*. 2005;115:1092-1099.
- (566) Tamura K, Umemura S, Sumida Y et al. Effect of genetic deficiency of angiotensinogen on the renin-angiotensin system. *Hypertension*. 1998;32:223-227.
- (567) Sookoian S, Gianotti TF, Gonzalez CD, Piroola CJ. Association of the C-344T aldosterone synthase gene variant with essential hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*. 2007;25:5-13.
- (568) Cusi D, Bianchi G. Renal mechanisms of genetic hypertension: from the molecular level to the intact organism. *Kidney Int*. 1996;49:1754-1759.
- (569) Li Y, Thijs L, Kuznetsova T et al. Cardiovascular risk in relation to alpha-adducin Gly460Trp polymorphism and systolic pressure: a prospective population study. *Hypertension*. 2005;46:527-532.
- (570) Tripodi G, Valtorta F, Torielli L et al. Hypertension-associated point mutations in the adducin alpha and beta subunits affect actin cytoskeleton and ion transport. *J Clin Invest*. 1996;97:2815-2822.
- (571) Perticone F, Sciacqua A, Barlassina C et al. Gly460Trp alpha-adducin gene polymorphism and endothelial function in untreated hypertensive patients. *J Hypertens*. 2007;25:2234-2239.

- (572) Dimke H, San-Cristobal P, de GM et al. gamma-Adducin stimulates the thiazide-sensitive NaCl cotransporter. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:508-517.
- (573) Krattinger N, Capponi A, Mazzolai L et al. Connexin40 regulates renin production and blood pressure. *Kidney Int.* 2007;72:814-822.
- (574) Yang SS, Lo YF, Wu CC et al. SPAK-knockout mice manifest Gitelman syndrome and impaired vasoconstriction. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21:1868-1877.
- (575) von WF, Berglund G, Carlson J, Mansson H, Hedblad B, Melander O. Genetic variance of SGK-1 is associated with blood pressure, blood pressure change over time and strength of the insulin-diastolic blood pressure relationship. *Kidney Int.* 2005;68:2164-2172.
- (576) Salvi E, Kutalik Z, Glorioso N et al. Genomewide association study using a high-density single nucleotide polymorphism array and case-control design identifies a novel essential hypertension susceptibility locus in the promoter region of endothelial NO synthase. *Hypertension.* 2012;59:248-255.
- (577) Schulz E, Gori T, Munzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Hypertens Res.* 2011;34:665-673.
- (578) Jia N, Xu J, Zhao H, Wang Y, Wang B, Niu W. Do genetic defects of DNA repair relevant proteins alter susceptibility to hypertension? A case-control study in northeastern Han Chinese. *Clin Chim Acta.* 2015;441:171-5. doi: 10.1016/j.cca.2014.12.017. Epub;2014 Dec 18.:171-175.
- (579) Naganuma T, Nakayama T, Sato N et al. Haplotype-based case-control study between human apurinic/aprimidinic endonuclease 1/redox effector factor-1 gene and cerebral infarction. *Clin Biochem.* 2009;42:1493-1499.
- (580) Wardle J, Carnell S, Haworth CM, Plomin R. Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:398-404.
- (581) Cassidy SB, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2009;17:3-13.
- (582) Parfrey PS, Davidson WS, Green JS. Clinical and genetic epidemiology of inherited renal disease in Newfoundland. *Kidney Int.* 2002;61:1925-1934.
- (583) Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 2007;316:889-894.
- (584) Loos RJ, Lindgren CM, Li S et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet.* 2008;40:768-775.
- (585) Benzinou M, Creemers JW, Choquet H et al. Common nonsynonymous variants in PCSK1 confer risk of obesity. *Nat Genet.* 2008;40:943-945.
- (586) Mountjoy KG. Functions for pro-opiomelanocortin-derived peptides in obesity and diabetes. *Biochem J.* 2010;428:305-324.
- (587) Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994;372:425-432.
- (588) Tyson J, Caple F, Spiers A et al. Inter-individual variation in nucleotide excision repair in young adults: effects of age, adiposity, micronutrient supplementation and genotype. *Br J Nutr.* 2009;101:1316-1323.

- (589) Trayhurn P. The biology of obesity. *Proc Nutr Soc.* 2005;64:31-38.
- (590) Gedik CM, Grant G, Morrice PC, Wood SG, Collins AR. Effects of age and dietary restriction on oxidative DNA damage, antioxidant protection and DNA repair in rats. *Eur J Nutr.* 2005;44:263-272.
- (591) Chen Y, Zheng T, Lan Q et al. Polymorphisms in DNA repair pathway genes, body mass index, and risk of non-Hodgkin lymphoma. *Am J Hematol.* 2013;88:606-611.
- (592) Hsu CC, Kao WH, Coresh J et al. Apolipoprotein E and progression of chronic kidney disease. *JAMA.* 2005;293:2892-2899.
- (593) Freedman BI, Satko SG. Genes and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2000;9:273-277.
- (594) Freedman BI, Volkova NV, Satko SG et al. Population-based screening for family history of end-stage renal disease among incident dialysis patients. *Am J Nephrol.* 2005;25:529-535.
- (595) Schupp N, Stopper H, Rutkowski P et al. Effect of different hemodialysis regimens on genomic damage in end-stage renal failure. *Semin Nephrol.* 2006;26:28-32.
- (596) Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18:1272-1280.
- (597) Radwan WM, Elbarbary HS, Alsheikh NM. DNA repair genes XPD and XRCC1 polymorphisms and risk of end-stage renal disease in Egyptian population. *Ren Fail.* 2015;37:122-128.
- (598) Trabulus S, Guven GS, Altiparmak MR et al. DNA repair XRCC1 Arg399Gln polymorphism is associated with the risk of development of end-stage renal disease. *Mol Biol Rep.* 2012;39:6995-7001.
- (599) Johnson N, Fletcher O, Palles C et al. Counting potentially functional variants in BRCA1, BRCA2 and ATM predicts breast cancer susceptibility. *Hum Mol Genet.* 2007;16:1051-1057.
- (600) Naccarati A, Pardini B, Polakova V et al. Genotype and haplotype analysis of TP53 gene and the risk of pancreatic cancer: an association study in the Czech Republic. *Carcinogenesis.* 2010;31:666-670.
- (601) Mechanic LE, Marrogi AJ, Welsh JA et al. Polymorphisms in XPD and TP53 and mutation in human lung cancer. *Carcinogenesis.* 2005;26:597-604.
- (602) Galli P, Cadoni G, Volante M et al. A case-control study on the combined effects of p53 and p73 polymorphisms on head and neck cancer risk in an Italian population. *BMC Cancer.* 2009;9:137. doi: 10.1186/1471-2407-9-137.:137-139.
- (603) Dahabreh IJ, Schmid CH, Lau J, Varvarigou V, Murray S, Trikalinos TA. Genotype misclassification in genetic association studies of the rs1042522 TP53 (Arg72Pro) polymorphism: a systematic review of studies of breast, lung, colorectal, ovarian, and endometrial cancer. *Am J Epidemiol.* 2013;177:1317-1325.