



**VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA**

**TESIS DOCTORAL**

**EXPLORACIÓN DE UN PERFIL PROTEICO  
EN SALIVA CON LOS MARCADORES  
COGNITIVOS, FÍSICOS Y FUNCIONALES DEL  
SÍNDROME DE FRAGILIDAD**

Doctorado en Discapacidad y Dependencia

**PRESENTADA POR:**

**ALFONSSINA NIEBLA CÁRDENAS**

**Salamanca 2023**





**VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA**

**TESIS DOCTORAL**

**EXPLORACIÓN DE UN PERFIL PROTEICO  
EN SALIVA CON LOS MARCADORES  
COGNITIVOS, FÍSICOS Y FUNCIONALES DEL  
SÍNDROME DE FRAGILIDAD**

**PRESENTADA POR:**

**Alfonssina Niebla Cárdenas**

**DIRIGIDA POR:**

**Eva M<sup>a</sup> Arroyo Anlló, Manuel Fuentes García y A.Silvia Puente González**

**Salamanca 2023**

**Dra. Dña Eva M<sup>a</sup> Arroyo Anlló**, Catedrática de la Universidad.

**Dr. D. Manuel Fuentes García**, Profesor Titular de Universidad.

**Dra. Dña Ana Silvia Puente González**, Profesora Contratada Doctora.

CERTIFICAN:

**Que Doña Alfonssina Niebla Cárdenas ha realizado bajo su dirección el trabajo titulado: “Exploración de un Perfil Proteico en Saliva con los Marcadores Cognitivos, Físicos y Funcionales del Síndrome de Fragilidad”, que cumplé con todos los requisitos necesarios para su presentación y defensa para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca.**

Para que conste y en el cumplimiento de la normativa vigente, firmo el presente certificado con fecha            de            de 2023.

LOS DIRECTORES:

**Fdo. :**  
**Dra. Dña Eva Ma**  
**Arroyo Anlló**

**Fdo.**  
**Dr. D. Manuel**  
**Fuentes García**

**Fdo.**  
**Dra. Dña Ana Silvia**  
**Puente González**

## **AGRADECIMIENTOS**

*A mis padres por aceptar y ayudarme a vivir la vida que yo elegí vivir. A papá por sorprenderse y apasionarse junto conmigo en todas aquellas situaciones que vivo o pienso día a día y darme ánimos para triunfar y a mamá por ser mi más grande fan, darme tranquilidad en los momentos de más grande obscuridad y firmeza para no rendirme ante cualquier adversidad.*

*A mis hermanas Blanquis y Dannie por su protección desde pequeña, guía, amor, dotándome de consejos con optimismo y objetividad, para resolver avante cada situación de mi vida.*

*A Maru por prestarme atención, ser mi escucha y permitirme depositar en ella mis más grandes miedos, alegrías y frustraciones. Al igual que ayudarme a ver con claridad todo lo que pasa en mi entorno, para que elija qué y cómo quiero vivir.*

*A José, que sin su ayuda, orientación, bondad y cariño no hubiera podido realizar la redacción de este trabajo.*

*A Laura, por ser una pieza fundamental para poder llegar a tener resultados de este trabajo y poderlos presentar.*

*A mis señores grandes, que conocí a través del proyecto de investigación, los cuales me inyectaron de energía y han reafirmado la convicción por seguir trabajando, investigando, atendiendo y protegiendo a este tipo de población. Pero sobre todo mi eterno agradecimiento a José y a Emilio por adoptarme como una integrante más de su familia.*

*En estos seis años ha habido personas que se han vuelto casa con su cariño, protección y cuidado. Siempre estaré agradecida por haberme topado con ustedes Meri, Sergio, Fer, Mari Ale, Vicente, Argelia, Jenni, Sara, Sophie, Mariana, Rosa, Seila, Geo, Isma, Ricardo, Laura, Maxi, Cass y Sarahi.*

*También agradezco a mi familia y amigos de antaño, que a pesar de la distancia y tiempo no me han soltado y seguimos compartiendo caminos juntos, riéndonos de lo volátil y cambiante de la vida. Sin duda, me llena el corazón su compañía Irma, Tío Paco, Tía Rosita, Thalía, Karla, Chío, Lups, Nalle, Betza, Pau, Angie, Lore, Jazmín, Vero, Migue y Erik.*

*A Daniel, por darme la ilusión de vivir un amor bonito hasta ahora y que a la vez sea una de las motivaciones para vivir un futuro lindo.*

*Al Doctor Gilván Baroni P., por haber hecho que viviera unos de los momentos más bonitos y enriquecedores en el doctorado, además de enseñarme con su ejemplo, la pasión por la docencia y el arte de enseñar, sin duda me llevo una gran amistad con “voce”.*

*A las personas que laboran en el ISAVE (Instituto Superior de Saúde en Amares, Braga) por arroparme, valorar mis ideas y mi trabajo durante mi estancia doctoral y después de esta.*

*Al Doctor Manuel Fuentes G., por haber confiado y haberse subido al barco de este proyecto de investigación, dándome la mano para que fuera una realidad y también enseñándome el trabajo en equipo, a sacar lo mejor de mí y a que todo esfuerzo tiene su recompensa.*

*A la Dra. A. Silvia Puente G. y el Dr. Roberto Sánchez M., por mostrarme su comprensión, empatía y ayudarme por momentos para la realización de esta investigación.*

*A la Dra. Eva M. Arroyo., por asesorarme con su expertís para realizar este trabajo.*

*Al Dr. Checho, por despertarme la inquietud de investigar y abrirme el camino de lo que serían cinco años de mi vida.*

*A mí, por muchas veces no dejarme vencer ante constantes adversidades que se tuvieron para realizar este proyecto de investigación y también, este ciclo de mi vida tan maravilloso y por momentos amargo.*

*“No te sientas vencido, ni aun vencido.  
No te sientas esclavo, ni aun esclavo.  
Arremete como el clavo enmohecido,  
que aún enmohecido sigue siendo clavo”*

*(A. Niebla-Castro, 2019)*





# Resumen

El síndrome de fragilidad se asocia a un envejecimiento adverso y disminución de las reservas fisiológicas. La causa subyacente de la fragilidad es multifacética, la cual incluye la inmunosenescencia, inflamación, entre otras alteraciones, las cuales conducen a la discapacidad cognitiva, física y la muerte. Por lo tanto, el descubrimiento de biomarcadores proteicos puede ser un paso adelante para el diagnóstico y pronóstico de este síndrome. Actualmente, los biomarcadores en saliva se utilizan como predictores tempranos de enfermedades. La recolección de saliva no es invasiva y es simple, lo que constituye un factor primordial para realizar pruebas en la población frágil. Los objetivos principales de esta investigación fueron analizar indicadores cognitivos, físicos y funcionales del síndrome de fragilidad y explorar la determinación de perfiles proteicos en saliva para su posible evaluación y correlación con este síndrome en un estudio piloto realizado a un grupo de 34 adultos mayores no institucionalizados de la provincia de Salamanca. Para la evaluación de los marcadores cognitivos, físicos y funcionales se empleó un protocolo de escalas (tests), que evaluaron indicadores bio-conductuales y psicosociales, y para la detección de biomarcadores en los 68 analitos de saliva obtenidos, se utilizó el método proteómico de monitoreo de reacción múltiple (SRM), en donde se detectó un perfil proteico diferencial de 9 proteínas: CYTC, CYTD, CYTS, CYTB, MIF, ALBU, CD44, COX3 y B2MG. Se realizaron análisis multivariantes y multivariados para la obtención de los resultados. Las conclusiones alcanzadas fueron la vinculación existente de aspectos multifactoriales tanto biológicos, físicos, funcionales, cognitivos y sociales del adulto mayor con el síndrome de fragilidad. Así como la detección de un perfil proteico diferencial relacionado con respuesta inflamatoria persistente de bajo grado a morbilidades asociadas, como el envejecimiento vascular, la adiposidad, problemas del estado de ánimo, deterioro cognitivo global y frontal, alteraciones de la marcha, fuerza de presión manual y la actividad física. En futuras investigaciones se recomienda aumentar el tamaño de la muestra para poder obtener mayores resultados, así como perfeccionar la metodología para poder llegar a una verificación y validación de los potenciales biomarcadores ya mencionados.

**Palabras Clave:** Fragilidad, Saliva, Inflamación, Inmunosenescencia, Biomarcadores y Proteómica.



# Abstract

The frailty syndrome is associated with adverse aging and decreased physiological reserves. The underlying cause of frailty is multifaceted, which includes immunosenescence, inflammation, among other alterations, which lead to cognitive and physical disability, and death. Therefore, the discovery of protein biomarkers may be a step forward for the diagnosis and prognosis of this syndrome. Currently, biomarkers in saliva are used as early predictors of diseases. Saliva collection is non-invasive and simple, which is a primary factor for testing in the frail population. The main objectives of this research were to analyze cognitive, physical and functional indicators of frailty syndrome and to explore the determination of protein profiles in saliva for their possible evaluation and correlation with this syndrome in a pilot study carried out on a group of 34 non-institutionalized older adults from the province of Salamanca. For the evaluation of the cognitive, physical and functional markers, a wide compendium of scales (tests) was used that evaluated bio-behavioral and psychosocial indicators, and for the detection of biomarkers in the 68 saliva analytes obtained, the proteomic method of multiple reaction monitoring (SRM/MRM), where a differential protein profile of 9 proteins was detected: CYTC, CYTD, CYTS, CYTB, MIF, ALBU, CD44, COX3, and B2MG. Multivariate analysis were performed to obtain the results. The conclusions reached were the existing link of multifactorial biological, physical, functional, cognitive and social aspects of the elderly with the frailty syndrome. As well as the detection of a differential protein profile related to a persistent low-grade inflammatory response to associated morbidities, such as vascular aging, adiposity, mood problems, global and frontal cognitive impairment, gait disturbances, manual pressure force, and physical activity. In future research, it is recommended to increase the size of the sample in order to obtain better results, as well as to improve the methodology in order to achieve verification and validation of the already mentioned potential biomarkers.

**Keywords:** Frailty, Saliva, Inflammation, Immunosenescence, Biomarkers and Proteomics



# Siglas

<b>2D-DIGE</b>	Electroforesis en gel de diferencia bidimensional
<b>ABVD</b>	Actividades Básicas de la Vida Diaria
<b>ADN</b>	Ácido Desoxirribonucleico
<b>ACP</b>	Análisis de Componentes principales
<b>AGCC</b>	Ácidos Grasos de Cadena Corta
<b>AH</b>	Ácido hialurónico
<b>AIT</b>	Ataques Isquémicos Transitorio
<b>AKT</b>	Proteína Kinsasa B
<b>ALBU</b>	Albumina
<b>ATP</b>	Adenosina Trifosfato
<b>B2M</b>	Beta-2-Microglobulina
<b>C°</b>	Grados centígrados
<b>CCI</b>	Correlación Interclase
<b>CCL2</b>	C-C quimioquinas 2
<b>CCR5</b>	Receptor de Quimiocina 5
<b>CFM</b>	Cuestionario de Funcionamiento de la Memoria
<b>CMM</b>	Células madre mesenquimales
<b>CMV</b>	Citomegalovirus
<b>COX3</b>	Citocromo Subunidad 3
<b>COP</b>	Células Progenitoras Osteogénicas
<b>CYTB</b>	Cistatina B
<b>CYTD</b>	Cistatina D
<b>CYTC</b>	Cistatina C
<b>CYTS</b>	Cistatina S
<b>DA</b>	Daltón
<b>DCL</b>	Deterioro Cognitivo Leve
<b>DCM</b>	Deterioro Cognitivo Moderado
<b>DHEA</b>	Dehidroepinandrosterona

- DM** Diabetes Mellitus
- DTT** Ditiotreitól
- EA** Enfermedad de Alzheimer
- EGFR** Receptor del Factor de crecimiento epidérmico
- ELISA** Ensayo de Inmunoabsorción Ligado a Enzimas
- ESC** Sociedad Europea de Cardiología
- ESR** Sedimentación de Eritrocitos
- EVC** Enfermedad Cerebrovascular
- ECVA** Enfermedad Cardiovascular
- FA** Ácido Fórmico
- FAB** Batería de Evaluación de Funciones Ejecutivas
- Fcxmin** Frecuencia cardíaca por minuto
- FDA** Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
- FE** Funciones Ejecutivas
- FIR** Fenotipo de Riesgo Inmunológico
- FF** Fenotipo de Fragilidad
- FI** Fragilidad Intermedio
- FSAS** Fenotipo secretor asociado a la senescencia
- HAS** Hipertensión Arterial Sistémica
- HAT** Hipertensión Arterial
- HDL** Lipoproteína de Alta Densidad
- HPA** Eje Hipotalámico pituitario suprarrenal
- HZ** Herpes Zoster
- IAGG** Asociación Internacional de Gerontología y Geriátría
- IAM** Infarto del miocardio
- IANA** Academia Internacional sobre Nutrición y Envejecimiento
- IB** Índice de Barthel
- IC** Insuficiencia Cardíaca
- ICAM** Molécula de Adhesivo Intercelular 1
- IEF** Enfoque isoeléctrico
- IEF** Método de Fraccionamiento de Péptidos
- IF** Índice de Fragilidad
- IFN- $\gamma$**  Interferón
- IF-VIG** Índice de Fragilidad y Valoración Integral Geriátrica
- IGF-1** Factor de Crecimiento Insulínico tipo 1
- IL-1** Interleucina 1 Beta
- IL-6** Interleucina 6

<b>IL-10</b>	Interleucina 10
<b>IMC</b>	Índice de Masa Corporal
<b>INE</b>	Instituto Nacional de Estadística de España
<b>LC-MS</b>	Cromatografía Líquida
<b>LCR</b>	Líquido Cefalorraquídeo
<b>LDL</b>	Lipoproteína de Baja Densidad
<b>LDS</b>	Lipopolisacáridos
<b>M</b>	Media
<b>MALDI-TOF</b>	Matrix Assisted Laser Desorption
<b>MEC</b>	Matriz Extracelular
<b>Me</b>	Mediana
<b>MHC</b>	Complejo de Histocompatibilidad
<b>MIF</b>	Factor Inhibitorio de Macrófago
<b>min.</b>	Minutos
<b>mM</b>	Milímetro
<b>MMP</b>	Matriz Metaloproteinasas
<b>MMP1</b>	Coleagenasa Intersticial 1
<b>MMP13</b>	Colagenasa 3
<b>MNA</b>	Mini Nutrition Assessment
<b>MoCA</b>	Montreal Cognitive Assessment
<b>SRM/MRM</b>	Monitoreo de Reacciones Múltiples
<b>MS</b>	Espectrometría de masas/Ionization y TOF-time-of-flight
<b>MT</b>	Memoria de Trabajo
<b>MMPs</b>	Metaloproteinasas de la matriz extracelular
<b>mtDNA</b>	Adenosina Trifosfato mitocondrial
<b>mTOR</b>	Diana de Rapamicina en células de mamífero
<b>Nf</b>	No fragilidad
<b>NIH</b>	Instituto Nacional de Salud
<b>ON</b>	Óxido Nítrico
<b>PCR</b>	Proteína C Reactiva
<b>PF</b>	Pre-fragilidad
<b>PMD</b>	Presión de Fuerza Manual Derecha
<b>PMI</b>	Presión de Fuerza Manual Izquierda
<b>pts.</b>	Puntos
<b>PTX3</b>	Pentraxina 3
<b>Qpcr</b>	Ensayo de Proteína C Reactiva en tiempo real
<b>RI</b>	Resistencia de Insulina

<b>ROS</b>	Reactivos del Oxígeno
<b>SASP</b>	Sistema de Información integrado y flexible
<b>SDS-PAGE</b>	Dodecilsulfato de sodio
<b>SEC</b>	Sociedad Europea de Cardiología
<b>s.</b>	Segundo
<b>SF</b>	Sin fragilidad
<b>SELDI-TOF</b>	Surface -enhanced laser desorption/ionization
<b>SI</b>	Sensibilidad a la Insulina
<b>SIDA</b>	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
<b>SM</b>	Síndrome Metabólico
<b>SNC</b>	Sistema Nervioso Central
<b>SPBB</b>	Short Physical Performance Battery/ Bateria Breve de Desempeño Físico
<b>SRM</b>	Monitoreo de Reacciones Múltiples
<b>TAD</b>	Tensión arterial Diastólica
<b>TAS</b>	Tensión arterial Sistólica
<b>TCE</b>	Traumatismo Craneoencefálico
<b>TFN-<math>\alpha</math></b>	Factor de Necrosis tumoral Alfa
<b><math>\mu</math>g</b>	Microgramo
<b>uL</b>	Microlitro
<b>Var</b>	Varianza
<b>VP</b>	Velocidad del Procedimiento
<b>VZV</b>	Virus Varicela Zoster



# Tabla de Contenidos

<b>Resumen .....</b>	<b>i</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>iii</b>
<b>Siglas .....</b>	<b>v</b>
<b>Tabla de Contenidos.....</b>	<b>ix</b>
<b>Lista de Figuras .....</b>	<b>xv</b>
<b>Lista de Tablas.....</b>	<b>xix</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>1</b>
<b>Capítulo I. Conceptualización Teórica.....</b>	<b>3</b>
I.1 Envejecimiento y Fragilidad.....	4
I.1.1 Situación del envejecimiento en España .....	4
I.2 Cambios Morfológicos y Funcionales en el Envejecimiento .....	4
I.2.1 Envejecimiento Cerebral y Cognitivo; Sistema Nervioso Central.....	4
I.2.2 Envejecimiento del Sistema Musculo-Esquelético .....	8
I.2.3 Envejecimiento de la Visión .....	10
I.2.4 Envejecimiento del Sistema Vestibular.....	10
I.2.5 Envejecimiento en el Sentido del Gusto y del Sistema Gastro-Intestinal .....	11
I.2.6 Envejecimiento del Sistema Cardiovascular .....	11
I.2.7 Envejecimiento del Sistema Respiratorio .....	12
I.2.8 Envejecimiento del Sistema Genito-Urinario .....	12
I.3 Fragilidad.....	13
I.4 Sistema Inmunológico en el Envejecimiento .....	15
I.5 Inflamación y Fragilidad.....	17

I.5.1	Pautas para seleccionar biomarcadores inflamatorios potenciales del síndrome de fragilidad .....	20
I.6	Proteínas Inmunes Estudiadas .....	24
I.6.1	Glóbulos Blancos en Sangre Periférica.....	24
I.6.2	Interleucina 6 (IL-6).....	24
I.6.3	Proteína C Reactiva (PCR) .....	25
I.6.4	Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) .....	26
I.6.5	Interleucina 1 (IL-1).....	26
I.6.6	Interleucina 4 (IL-4).....	27
I.6.7	Interleucina 10 (IL-10).....	27
I.6.8	Molécula de Adhesivo Intercelular-1 (ICAM-1) .....	28
I.6.9	Albúmina (ALBU) .....	28
I.6.10	Cistatina-C (CYTC) .....	28
I.6.11	Cistatina D (CYTD).....	29
I.6.12	Cistatina S (CYTS) .....	30
I.6.13	Cistatina B (CYSB).....	30
I.6.14	Factor Inhibidor de la Migración de Macrófago (MIF) .....	31
I.6.15	CD44 Antígeno .....	31
I.6.16	Beta-2-Microglobulina (B2MG).....	32
I.6.17	Citocromo C Oxidasa Polipéptido III (COX3) .....	33
I.7	Enfermedades Relacionadas con la Fragilidad.....	33
I.7.1	Enfermedades Infecciosas asociadas a la Fragilidad .....	33
I.7.2	Neurodegeneración y Fragilidad.....	35
I.7.3	Enfermedades crónicas y fragilidad.....	37
I.7.4	Enfermedades Cardiovasculares (ECVA).....	38
I.7.5	Arteriosclerosis .....	38
I.7.6	Hipertensión ArterialSistémica (HAS) .....	38
I.7.7	Sarcopenia.....	39
I.7.8	Patologías Esqueléticas .....	40
I.7.9	Patologías Metabólicas .....	41
I.8	Biomarcadores de Fragilidad en Fluidos Salivales .....	43
I.8.1	Proteómica .....	43

I.8.2	Tecnologías moleculares de alto rendimiento para el descubrimiento de biomarcadores en la saliva humana.....	46
<b>Capítulo II. Material y Método .....</b>		<b>51</b>
II.1	Planteamiento de la Investigación .....	52
II.2	Hipótesis y Objetivos.....	52
II.2.1	Hipótesis.....	52
II.2.2	Objetivos .....	53
II.3	Metodología.....	55
II.3.1	Muestra y Material .....	55
II.4	Material.....	56
II.4.1	Instrumentos de evaluación clínica .....	56
II.4.2	Materiales Necesarios para las Evaluaciones y Análisis.....	63
II.5	Método y Procedimiento.....	64
II.5.1	Descripción de la maniobra o Intervención.....	64
II.5.2	Preparación de la muestra para su análisis ómico .....	66
II.6	Diseño y Variables del Estudio.....	68
II.7	Cuestiones Éticas .....	71
II.8	Análisis Estadístico.....	71
<b>Capítulo III. Resultados.....</b>		<b>75</b>
III.1	Resultados.....	76
III.2	Resultados descriptivos de la población del estudio.....	76
III.2.1	Socio demográficos .....	76
III.2.2	Medidas Antropométricas .....	77
III.2.3	Resultados descriptivos de los indicadores geriátricos, pruebas cognitivas y pruebas funcionales.....	77
III.3	Resultados descriptivos por grupos de individuos dentro del espectro frágil y factores clínicos .....	82
III.4	Resultados descriptivos: Perfil de Abundancia Relativa de Proteínas .....	87
III.5	Resultados descriptivos de las relaciones entre las proteínas y variables clínicas .....	89
III.6	Correlaciones clínicas .....	91

III.6.1	Matriz de Correlaciones de las proteínas localizadas e Índice de Fragilidad .....	93
III.6.2	Correlaciones de Proteínas con Variables Funcionales y Cognitivas .....	95
III.7	Análisis Multivariante: Perfil proteico de Abundancia Relativa.....	96
III.7.1	Análisis Factorial .....	96
III.7.2	Análisis De Componentes Principales (ACP).....	100
III.7.3	Algoritmos de Clustering aplicados a las proteínas del estudio .....	103
III.7.4	Dendograma .....	104
III.7.5	Mapa de Colores .....	107
III.7.6	Canonical Bitplot .....	108
<b>Capítulo IV. Discusión.....</b>		<b>111</b>
IV.1	Identificación de factores socio demográficos, físicos, funcionales y cognitivos asociados a la población frágil.....	113
IV.2	Detección de las nueve proteínas en saliva relacionadas con disfunciones fisiológicas asociadas con el síndrome de fragilidad .....	118
IV.3	Exploración de un perfil proteico diferencial en saliva, asociado a marcadores clínicos .....	121
<b>Capítulo V. Conclusiones y Limitaciones.....</b>		<b>131</b>
V.1	Conclusiones.....	132
V.2	Conclusions .....	134
V.3	Limitaciones .....	137
<b>Bibliografía .....</b>		<b>139</b>
<b>Apéndice I. Tablas de Resultados.....</b>		<b>169</b>
<b>Anexos .....</b>		<b>193</b>
Anexo I.	Carta de aprobación del Comité de Bioética para la realización del estudio .....	195
Anexo II.	Modelo de Consentimiento Informado para participantes con plena capacidad.....	197
Anexo III.	Anamnesis del sujeto participante.....	203
Anexo IV.	Escala de Valoración Sociofamiliar de Gijón .....	207

Anexo V. Índice de Fragilidad y Valoración Geriátrica .....	209
Anexo VI. Evaluación del Estado Nutricional (MNA) .....	211
Anexo VII. Evaluación del estado mental y cognitivo: Montreal Cognitive Assesment.....	213
Anexo VIII. Batería de Evaluación del Lóbulo Frontal.....	215
Anexo IX. Escala de Depresión y Ansiedad Hospitalaria.....	217
Anexo X. Evaluación de la capacidad funcional: Batería Breve de Desempeño Físico (SPBB).....	221
Anexo XI. Evaluación de la capacidad funcional: Índice de Actividades Básicas de la Vida Diaria.....	225
Anexo XII. Evaluación de la capacidad funcional: Cuestionario de Actividad Física IPQ-E .....	227



# Lista de Figuras

Fig. 1. La Inmunosenescencia interfiere en una serie de aspectos de las células inmunitarias innatas y adaptativas, como la involución tímica, las respuestas alteradas de las células T y B, el aumento de los niveles séricos de IgG e IgA y la inflamación crónica de bajo grado. Autoria propia, sacado de: Translational Research into frailty from bench to bedside: Salivary biomarkers for inflammaging.....	16
Fig. 2. En la Inflamación hay varios factores pueden desregular la homeostasis intracelular durante el envejecimiento, intensificando la secreción de citocinas y quimiocinas inflamatorias. Autoria propia, sacado de: Translational Research into frailty from bench to bedside: Salivary biomarkers for inflammaging.....	19
Fig. 3. Cronograma de la metodología del estudio, en donde se observan las fases de cada actividad; 1) Reclutamiento a sujetos de pueblos rurales de la provincia Salamantina; 2) Evaluación física, funcional y cognitiva al participante, 3) Recogida de saliva y entrega de resultados de evaluación realizada en la primera sesión y 4) Análisis proteómico.....	65
Fig. 4. (a) Distribución de los sujetos según el estado civil. (b) Distribución de los sujetos de acuerdo a la relación con convivientes.....	76
Fig. 5. Clasificación de las frecuencias y porcentajes de grupos de fragilidad.....	77
Fig. 6. Distribución y porcentaje de los sujetos evaluados en indicadores de riesgo geriátrico por el IF-VIG y cuestionario de riesgo geriátrico.....	79
Fig. 7. Distribución y porcentaje de los sujetos de la muestra que tienen algún nivel de riesgo de discapacidad por el SPBB.....	80

Fig. 8. Distribución y porcentaje de los sujetos estudiados en las diferentes subpruebas del SPBB: (a) equilibrio TANDEM; (b) velocidad de la marcha; (c) levantarse y sentarse en la silla.....	80
Fig. 9. Niveles de Actividad Física de la muestra de sujetos por el IPQ-E.....	81
Fig. 10. Niveles de dependencia en los sujetos evaluados por el IB.....	81
Fig. 11. Grupos de sujetos que se encuentran en las diferentes categorías del IF-VIG y de la escala MoCA .....	84
Fig. 12: Grupos de sujetos que se encuentran en las diferentes categorías del IF-VIG con el SPBB. ....	86
Fig. 13. Diagrama de cajas y bigotes de las 8 proteínas detectadas en saliva sin normalizar .....	87
Fig. 14. Diagrama de cajas y controles de proteínas normalizadas inter muestras e intra muestras. ....	88
Fig. 15. Correlograma entre el IF-VIG y las 8 proteínas detectadas en el estudio mostrando que la CYTD y la CYTC eran las únicas proteínas en tener una asociación significativa con el IF-VIG. También en este mismo gráfico se observan las asociaciones entre las proteínas 8 proteínas detectadas. ....	93
Fig. 16. Gráfico de sedimentación, donde se muestra la magnitud de autovalores y los factores a extraer de las proteínas detectadas. ....	97
Fig. 17. Biplot con rotación Varimax de las proteínas detectadas .....	98
Fig. 18. Análisis de Factores, dónde se representan correlaciones positivas del incremento de abundancia relativa de proteínas y correlaciones negativas de la disminución de la abundancia relativa de las proteínas detectadas en el estudio. ....	99
Fig. 19. Gráfico de Sedimentación dónde se observan los dos componentes principales de los diez obtenidos de la muestra, los cuales explicaban más del 50% de las proteínas estudiadas en esta investigación.....	100
Fig. 20. Diagrama de ACP en el IF-VIG y las proteínas detectadas, en donde existen muchos valores dispersos en el plano factorial y otros más concentrados en el centro de ambas dimensiones próximas al 0. También en el cuarto cuadrante tiene valores muy bajos en las proteínas representadas en la	



segunda dimensión y valores altos en la proteína representada en la primera dimensión. ....	102
Fig. 21. Gráfico de K medias con tres conglomerados.....	103
Fig. 22. Gráfico de K medias con cuatro conglomerados .....	104
Fig. 23. Dendograma de tres agrupamientos, donde el primer agrupamiento está colocado de color rojo, el segundo agrupamiento de color azul y el tercer agrupamiento de color verde, el cual este sobresale de los demás, ya que sus observaciones no tienen similitud con las que integran los otros dos agrupamientos. ....	105
Fig. 24. Diagrama de Agrupamiento de proteínas, donde existen tres agrupamientos de distintos, en donde tiene mayor abundancia relativa las proteínas que se encontraran en la dimensión 1 en el cuadrante I. ....	106
Fig. 25. Mapa de colores, donde se muestra la expresión de la intensidad de las 8 proteínas en los 34 sujetos. Observándose que las proteínas CD44, ALBU, CYTB y B2MG en base a su abundancia relativa se expresan de forma diferente que las proteínas CYTC, CYTD, CYTS y MIF con los sujetos del estudio. ....	108
Fig 26. Canonical Biplot las variables altamente correlacionadas apuntan en direcciones similares, estas fueron CYTD, CYTC, CYTS, MIF formando un conglomerado de los tres grupos observados en este estudio. Por otra parte, se agrupo un segundo grupo con las CD44, ALBU y CYTB, las cuales se presentaron hacia la otra dirección y daban una correlación entre ellas. El tercer grupo lo observamos al observar a la B2MG, la cual nos muestra que no tiene una asociación con ninguna de las otras proteínas por ser la que tiene mayor abundancia relativa de proteínas .....	109



# Lista de Tablas

Tabla 1. Protocolo de escalas para la evaluación biocomportamentales y psicosociales.....	62
Tabla 2. Materiales necesarios para la evaluación y el análisis de las variables a medir.....	63
Tabla 3. Nombres y codificaciones de las variables a estudiar .....	69
Tabla 4. Estadísticos descriptivos de la caracterización socio demográfica de la muestra .....	170
Tabla 5. Estadísticos descriptivos de medidas antropométricas.....	170
Tabla 6. Totales cuantitativos de las pruebas cognitivas y funcionales .....	170
Tabla 7. Descriptivo de los grupos de fragilidad y variables socio demográficas .....	171
Tabla 8. Contraste de grupos por variables socio demográficas .....	171
Tabla 9. Descriptivos de los grupos de sx. de fragilidad, valores antropométricos y estado nutricional. ....	172
Tabla 10. Contraste de grupos por variables antropométricas y estado nutricional.....	172
Tabla 11. Descriptivos de categorías de IF-VIG con las variables de morbilidad asociada y números de fármacos. ....	172
Tabla 12. Contraste de grupos por morbilidad asociada y número de fármacos.....	173
Tabla 13. Descriptivos de categorías de IF-VIG con subpruebas a nivel cognitivo y mental.....	173
Tabla 14. Contraste de grupos de fragilidad con las subpruebas a nivel cognitivo y mental.....	173
Tabla 15. Descriptivos de categorías de IF-VIG con subpruebas a nivel funcional .....	174
Tabla 16. Contraste de grupos con las subpruebas a nivel funcional.....	174
Tabla 17. Sumary de concentración de proteínas (sin normalizar) .....	175
Tabla 18. Contraste por proteínas y categorías de IF-VIG.....	175

Tabla 19. Contraste por proteínas, marcadores físicos, cognitivos y funcionales.....	176
Tabla 20. Correlaciones de variables cuantitativas sociodemográficas, antropométricas y clínicas con el IF-VIG .....	179
Tabla 21. Correlaciones de variables cualitativas sociodemográficas, antropométricas y clínicas con el IF-VIG .....	180
Tabla 22. Matriz de correlaciones del IF-VIG y proteínas detectadas .....	181
Tabla 23. Correlaciones de proteínas, variables funcionales y cognitivas .....	184
Tabla 24. KMO y prueba de Bartlett medida de las proteínas detectadas .....	184
Tabla 25. Abundancia Relativa de las proteínas detectadas en los tres factores que se formaron en el estudio.....	185
Tabla 26. Comunalidades y especificidad.....	185
Tabla 27. Varianza explicada acumulada y el total de porcentaje de varianza que se explica .....	186
Tabla 28. Modelo de regresión lineal múltiple que forma el primer componente y el segundo componente.....	186
Tabla 29. Dataset: valores de abundancia de proteínas ( $\times 10^{-6}$ unidades) .....	187

# Introducción

Los avances en ciencias médicas, las mejoras en las condiciones de vida y las intervenciones eficaces de salud pública han aumentado la esperanza de vida a lo largo de los años. El principal impulsor de la esperanza media de vida es la disminución de la mortalidad infantil y juvenil (Niebla-Cárdenas et al., 2022). Sin embargo, la mortalidad en la vejez también ha disminuido y en consecuencia la esperanza de vida a partir de los 60 años se ha alargado (Mathers et al., 2015). En 2019, el número estimado de personas que envejecieron fue de 1000 millones y se espera que aumente a 1400 millones para 2030 y 2100 millones para 2050 (OMS, 2020). Por lo tanto, comprender el envejecimiento y enfermedades relacionadas con el envejecimiento ha adquirido importancia para orientar las intervenciones sanitarias preventivas y terapéuticas.

El envejecimiento es un fenómeno complejo que implica cambios metabólicos y a veces, estructurales en cada nivel organizativo jerárquico del cuerpo, desde las células hasta los órganos, que conducen al deterioro funcional (Niebla-Cárdenas et al., 2022). Los estudios observacionales en humanos sobre la población anciana sugieren que la edad fisiológica no siempre coincide con la edad cronológica y que el proceso de envejecimiento varía en velocidad y características de un individuo a otro (Alvarado-García et al., 2014). Por lo tanto, es importante poder estratificar la población anciana que tiene un mayor riesgo de tener una edad fisiológica avanzada y dolencias relacionadas con el envejecimiento, ya que la edad es un factor de riesgo para muchas enfermedades crónicas y síndromes geriátricos que incluye el síndrome de fragilidad, inestabilidad, incontinencia, enfermedad cardiovascular (ECVA), diabetes mellitus (DM) y neurodegeneración (Niccoli & Partridge, 2012; Kirkland & Tchkonja, 2017).

El síndrome de fragilidad se asocia con el envejecimiento adverso, con ella es probable tener mayores resultados de salud desfavorables frente a factores estresantes externos o

internos, debido a la disminución de las reservas fisiológicas (Pansarasa et al., 2019). Es decir, el síndrome de fragilidad se asocia a la disminución de la capacidad de recuperación del cuerpo y al aumento en la probabilidad de discapacidad física, cognitiva y pérdida funcional progresiva, hospitalización e incluso la muerte.

Los mayores costos de atención médica asociados al síndrome de fragilidad son multifactoriales, incluyendo el costo de la atención de enfermería, medicamentos, tratamientos de fisioterapia, consultas médicas y visitas de emergencia (Hajek et al., 2018). El síndrome de fragilidad se asocia a otras comorbilidades y aumentan el uso de recursos sanitarios hospitalarios y los costes relacionados (García-Nogueras et al., 2018), por lo que se hace evidente la importancia de la detección temprana, así como la evaluación del riesgo. Debido a ello la posibilidad de una detección oportuna mediante el uso de biomarcadores, podrían ser métodos muy eficaces para evaluar la eficiencia de nuevas intervenciones contra el síndrome de fragilidad. Tal es el caso de los biomarcadores que se dirigen a parámetros clínicos relacionados con la respuesta inflamatoria (Saedi et al., 2019). Actualmente, la evidencia afirma que dichos biomarcadores en las mediciones del estado basal están asociados con el fenotipo de fragilidad de Fried y el índice de fragilidad de Rockwood (Collerton et al., 2012; Mitnitski et al., 2015). Se cree que los cambios en el proteoma de los pacientes unifican el proceso fisiopatológico que sustenta la progresión acelerada hacia la fragilidad (Saedi et al., 2019).

Idealmente, los biomarcadores deberían evaluarse utilizando métodos mínimamente invasivos para disminuir el riesgo de infección en esta población vulnerable. Además, el método debe ser asequible y sencillo, de forma que facilite la repetición de pruebas en un gran número de personas. El análisis de biomarcadores en fluidos salivales se ajusta a estos criterios, ya que es un proceso mínimamente invasivo de alto rendimiento con métodos ampliamente utilizados.

Capítulo I.

**Conceptualización**

**Teórica**

## **I.1 Envejecimiento y Fragilidad**

### **I.1.1 Situación del envejecimiento en España**

La población residente en España se sitúa, según cifras poblacionales en 46.65.302 habitantes, de los cuales aprox. 9.1 millones son personas mayores de 65 años, constituyendo el 18.5% de la población total de Castilla y León, Asturias, Galicia, País Vasco, Aragón y Cantabria, las cuales son las comunidades autónomas más envejecidas superando el porcentaje del 21% (Pérez-Díaz et al., 2020), siendo los castellanoleoneses la cuarta posición no solo española, sino a nivel europeo de tener adultos mayores con edades que comprenden los 84.3 años de edad (Belén-Ramos, 2019).

## **I.2 Cambios Morfológicos y Funcionales en el Envejecimiento**

### **I.2.1 Envejecimiento Cerebral y Cognitivo; Sistema Nervioso Central**

El envejecimiento es un proceso multifactorial, en donde existe una disminución del tamaño del cerebro (Harada, 2013). Se ha demostrado que la disminución del hipocampo está relacionada con diabetes mellitus (DM), hipertensión (HAT), obesidad, depresión, etc.; este posee alta capacidad de neuro plasticidad (Bano et al., 2011), tanto en materia blanca como en gris. El volumen de materia gris es de menor tamaño en la corteza prefrontal, lóbulos temporales (temporal medial) (Raz et al., 1997), mientras en la materia blanca, se observa mayor pérdida de volumen en la rodilla del cuerpo calloso (Madden et al., 2009), donde se interconecta con la corteza bilateral dorsolateral prefrontal e hipocampo, mientras que en el área subcortical es en la sustancia negra y el cerebelo (Murman, 2015; Schulte et al., 2005). En el envejecimiento existe mayor deterioro en los pares frontales y ganglios basales, los cuales hacen que haya déficits sensoriales periféricos y un deterioro estructural, observándose en la respuesta motora (Schulte et al., 2005).

Las Inteligencia cristalizada y fluida tienen cambios a lo largo de la vida, estos conceptos fueron propuestos por Catell en 1963. La cristalizada, es el cúmulo de habilidades y recuerdos que resultan de las experiencias adquiridas previamente y forma lo que se conoce como conocimiento adquirido (Catell et al., 1963). Los adultos mayores tienden a desempeñarse mejor en tareas que requieren este tipo de inteligencia, en comparación de los



adultos más jóvenes. En tanto la inteligencia fluida, es la habilidad de procesar, aprender nueva información, resolver problemas y manipular el medio que nos rodea (Gómez-Zermeño & Peña Cereceres, 2013). Las funciones ejecutivas (FE), la velocidad del procesamiento (VP), la memoria y la habilidad psicomotora son considerados dominios cognitivos fluidos, muchas de estas, especialmente las habilidades psicomotoras y la VP alcanzan su punto máximo en la tercera década de la vida y se va deteriorando cada año (Salthouse et al., 2012), reflejándose así en la lentitud de la velocidad de la marcha y caídas (Holtzer et al., 2014). Existe una heterogeneidad significativa entre el razonamiento perceptivo y la VP (Wisdom et al., 2012). Algunas habilidades cognitivas, como el vocabulario son resistentes al envejecimiento del cerebro e incluso puede mejorar con la edad y forman parte de las funciones cristalizadas (González et al., 2013).

VP es la rapidez con la que se realizan las actividades cognitivas, así como las respuestas motoras. La desaceleración de este proceso en la vejez puede afectar el rendimiento de otros dominios cognitivos (fluidez verbal) (Harada et al., 2013). Salthouse (1996) propone que la VP en el envejecimiento crea un descenso generalizado, siendo así que el enlentecimiento del procesamiento inicial de tareas complejas no permite después contar con información necesaria para completar la tarea o para la llegada de otra. Esta disminución en la VP en personas sanas podrá estar asociada por cambios en la sustancia blanca (reducción en las fibras nerviosas y degeneración de mielina)

Rodríguez et al., (2022) mencionan que la atención es la habilidad de concentrarse o enfocarse a estímulos específicos, en esta existen tres redes atencionales que llevan a cabo las funciones de alerta, orientación y control ejecutivo. La red de alerta permite iniciar y mantener un estado de atención, excitación sobre un estímulo específico (interviene el tálamo, corteza frontal y parietal); la red de orientación permite seleccionar el objeto (intervienen la corteza parietal lateral y campos oculares frontales) y la red de atención ejecutiva, tiene como objetivo monitorear y resolver conflictos entre respuestas (participan la corteza prefrontal cingulada anterior y lateral). Los procesos atencionales influyen en la disminución del rendimiento cognitivo de los ancianos, en la inhibición y en la memoria operativa, lo que influye en la rapidez y calidad de respuestas (Pereiro Rozas & Juncos Rabadán, 2002). El cambio más notable de los procesos atencionales con la edad es en la atención selectiva y dividida. En la atención selectiva es la habilidad de enfocar información específica del medio, ignorando al mismo tiempo información irrelevante, mientras que la

atención dividida es la habilidad de enfocarse en hacer múltiples actividades al mismo tiempo (Harada et al., 2013).

En el envejecimiento también hay un deterioro en la memoria de trabajo (MT), la cual Badelley & Logie (1999) describieron como la asociación entre los componentes más complejos del procesamiento de información, ya que no es solo retener información, sino también manipularla, este es un componente de FE ligado a procesos atencionales y de control (encargado el ejecutivo central), la cual tiene sustento en las cortezas prefrontales. Se considera que desempeña varias FE como coordinar, centrar, cambiar la atención y activar representaciones dentro de la memoria a largo plazo; esta función no se almacenará temporalmente. El ejecutivo central podrá ser una construcción unitaria (el control y división atencional) (Posner et al., 2012).

A partir de los 50 años la memoria comienza a sufrir fallas discretas en esta función (Rodríguez et al., 2022), relacionados con la ralentización de la VP (Salthouse, 1996), reducción de la inhibición de información y deterioro del uso de estrategias para nuevas habilidades y recuperación de información aprendida (Lezak et al., 2012). La memoria a largo plazo está dividida en memoria declarativa y no declarativa. La primera (explícita), almacena eventos de forma consciente y dentro de ella se encuentra la memoria semántica y episódica (Haran et al., 2012), mientras que por su lado, la memoria semántica trata de información, uso de lenguaje y conocimiento práctico, como saber el significado de las palabras, la memoria episódica (memoria autobiográfica), está relacionada con recordar eventos personales que ocurrieron en un lugar y tiempo determinado (Kolb & Whishaw, 2006). La memoria episódica se va perdiendo a lo largo de la vida, mientras que la memoria semántica se perderá sobre todo en la veje (Aizpurua & Koutstall, 2015) Existe también deterioro en la memoria prospectiva, la cual, su función es recordar al sujeto realizar una acción prevista en el futuro (Haran et al., 2012). Mientras tanto la memoria no declarativa (implícita) es otro gran conjunto de memoria. Se ha evidenciado relación entre su deterioro y la disminución en los volúmenes basales de materia gris en lóbulos frontales y temporales (Rodríguez et al., 2022). Este tipo de memoria se tiene afuera de la conciencia de las personas, tal es el caso de la memoria procedimental e involucra destrezas de memoria motora y herramientas cognitivas (condicionamiento clásico) y priming, además, de ser la que se conserva con la edad (Lezak et al., 2012; Murman 2015). En el envejecimiento se suele generar disminución

en la cantidad de información que se adquiere y dificultad en el acceso y recuerdo de la misma (Rodríguez et al., 2022).

El Lenguaje está compuesta por habilidades cognitivas cristalizadas y fluidas, el cual se encuentra intacto en el envejecimiento e incluso podrá mejorar. Rabadán (1998) ha demostrado que al afectarse la memoria de trabajo (MT) podría pasar a afectar todos los aspectos del lenguaje, especialmente los más complejos. La resistencia de la capacidad verbal al declive por envejecimiento se asocia a procesos compensatorios. La reducción en la densidad de materia gris, relacionada con la edad en áreas del lenguaje, conducen a una reorganización funcional, de la red a través de un aumento en la conectividad funcional que resulta del reclutamiento de nuevas áreas, cercanas a las regiones centrales del lenguaje (Rodríguez et al., 2022).

Las habilidades viso espaciales/construcción son un grupo de funciones cognitivas implicadas en la capacidad de comprender el espacio en dos y tres dimensiones. En ellas participa la percepción, la cual es la capacidad de apreciar la ubicación física de los objetos (Rosselli et al., 2015). El reconocimiento visual de objetos, formas, gestos y signos convencionales se mantiene estable en edad avanzada. El juicio viso perceptivo y la capacidad de percibir la orientación espacial disminuye con la edad, mientras que la capacidad para copiar una figura simple no se ve afectada por ella, pero si se verá en el caso de copiar un diseño complejo (Murman, 2015). Esto también ocurrirá en la planificación y dirección de movimientos relacionados con la orientación. Se dice que los efectos viso espaciales proceden de deterioros de memoria (Alescio-Lautier et al., 2007). Es un hecho que a nivel fisiológico y funcional hay un aumento del cristalino, miosis senil, reducción de fotorreceptores en la retina central, lo cual contribuye en la reducción de la función visual y la poca capacidad de adaptarse a la oscuridad, deslumbramiento y agudeza visual dinámica (Lord et al., 2018); esta información visual contribuye al equilibrio y locomoción. Se ha demostrado que la ausencia de visión en la marcha (suavidad y ritmo en el caminado) está asociada al aumento de caídas en personas mayores (Lord et al., 2018).

La percepción auditiva relacionada con el tono desciende en el envejecimiento, observando dificultades para discriminar cambios en el tono y problemas para diferenciar ruidos de fondo (Rodríguez et al., 2022).

La propiocepción, como representación sensorial interna del cuerpo en el espacio, planificación y coordinación del movimiento, es una capacidad importante para mantener el equilibrio, ya que hay un control postural, el cual influirá también en el sistema visual y vestibular; esta capacidad se irá deteriorando con el tiempo (Goble et al., 2009; Lord et al., 2018).

Las FE son susceptibles a un deterioro con la edad, estas involucran toma de decisiones, capacidad de autocontrol, resolución de problemas, flexibilidad, planificación y secuenciación de respuestas; y multitarea, apreciación de similitudes y descripción de proverbios (Baddeley & Logie, 1999).

Con el envejecimiento también hay cambios morfológicos y fisiológicos, como en la mitocondria muscular, en donde existe un daño, lo que resulta una producción de adenosina trifosfato (ATP) y aumento de reactivos del oxígeno (ROS) (Short et al., 2005). En los husos neuromusculares, predominantemente en las terminaciones primarias, que responden a cambios en la longitud y velocidad de músculo (Goble et al., 2009), la pérdida de masa muscular conduce a la reducción del número de fibras musculares en el envejecimiento (aprox. 50%), que se pierden mediante la apoptosis, la cual está inducida por un daño en el ROS del ácido desoxirribonucleico (ADN) mitocondrial, afectando principalmente a la gran fibra rápida tipo II (Dickinson et al., 2002). Los mecanismos de pérdida de masa muscular son la denervación de neuronas motoras y la pérdida de soporte trófico (Tomilson et al., 1977). La proteína Kinasa B (AKT) y la diana de rapamicina en células de mamífero. (mTOR) son importantes mediadores de la vida y de la función muscular (Rodríguez-Pérez et al., 2011). En la vejez hay un deterioro en la fosforilación de AKT, estos hacen que disminuya la síntesis de proteína, interrumpen la reparación, el equilibrio regenerativo del músculo y disminuya el tamaño general de este y la fuerza. En el envejecimiento la reducción de la señalización de la factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) en la restricción calórica, se asocia a la conservación de masa muscular (Colman et al., 2010).

## **I.2.2 Envejecimiento del Sistema Musculo-Esquelético**

En el sistema musculoesquelético, los tejidos afectados con la edad son el músculo, hueso, cartílago y tendón.

En cuanto a la información táctil también existen cambios morfológicos en los crepúsculos de Meissner y Pacini. La pérdida de los crepúsculos de Pacini se asocia con la reducción de la vibración sensorial en miembros inferiores comparados con miembros superiores, los cuales se asociarán a caídas (Vrancken et al., 2006).

Respecto a la masa muscular, existe un deterioro, el cual se empieza hacer notoria a partir de la sexta década de vida, debido a la inactividad física que contribuye al desarrollo de sarcopenia y dará origen a la fragilidad (Hubbard et al., 2010). Se ha demostrado que se pierde un 20% de fuerza de agarre que se tenía a los 20's, en los 60's, también se observará una reducción del 28% en la fuerza de las piernas en hombres y mujeres. Similares disminuciones ocurren en músculos proximales y distales (Doherty, 2022); en miembros distales esta reducción de energía se observará en la subida de escaleras, lentitud de la marcha, pérdida del equilibrio y arrastre de pies (Lord et al., 2018). Esto traerá como consecuencia la reducción de actividades de la vida diaria (AVDB), independencia y calidad de vida (Hairi et al., 2010).

En el transcurso a la vejez existen marcados cambios en la estructura ósea. En particular, las células formadoras de hueso (CMM) proliferan a tasas más lentas, tienen una autofagia reducida y se diferencian preferentemente en adipocitos frente a osteoblastos del envejecimiento, además juegan un rol importante junto con los telómeros en esta etapa de vida (Díaz-Martínez, 2022). Adicionalmente la desregulación de hormonas en los osteoblastos, los osteocitos, alteraciones en la respuesta celular a hormonas, metabolismo de la vitamina D, ingesta excesiva de vitamina A, puede provocar una disminución de la masa ósea y aumento en la incidencia de fracturas (Olmos et al., 2007).

Según Martin et al. (2004), en el envejecimiento existen cambios en el cartílago articular asociado a un decremento del número de condrocitos, que derivan en una disminución general de la síntesis de matriz extracelular (MEC). El fenotipo secretor asociado a la senescencia (FSAS) se encuentran en el cartílago junto con los condrocitos, estos provocan aumento de la expresión de mediadores inflamatorios y proteasas que degradan la matriz. Los condrocitos senescentes se asocian al acortamiento de telómeros. Se ha demostrado que la acumulación de ROS afectará a la apoptosis de los condrocitos, la senescencia, la síntesis de MEC y la señalización a través del óxido nítrico (ON) (Varela-Eirín, et al., 2019). También existe una mayor descomposición de colágeno tipo II, mayor

proporción de sulfato de queratán y pequeñas moléculas desorganizadas (Dejica et al., 2012). También se produce un aumento de la expresión de catabolismo, genes que codifican citocinas proinflamatorias y la metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMPs) en el cartílago articular, vinculado a la degeneración y pérdida de cartílago causando rigidez articular, inflamación sinovial y subcondral, edema de la médula ósea con aumento de la presión en la cavidad de esta, lo cual puede irritar los nerviosos en el hueso sinovial y periarticular, causando dolor en las articulaciones (Grote et al., 2019).

Los tendones son estructuras altamente organizadas que unen músculos a los huesos y que producen movimientos, estos con la edad tienen cambios en la estructura (tamaño de fibra), reducción en la densidad y desorganización de la fibrilla de colágeno. Además, tienen una disminución en el contenido de agua y proteoglicanos, lo que suele conducir a un incremento de calcificación, acumulación de lípidos y aumento en la reticulación (Magnusson & Kjaer, 2018). La inflamación y la expresión de MMP en los tendones aumenta, lo que contribuye a cambios estructurales y manifestaciones clínicas (Kietrys et al., 2012).

Por último, los órganos tendinosos de Golgi (ubicados en el músculo-tendón), son muy sensibles al movimiento y responden a los cambios en la tensión muscular. La retroalimentación por estos receptores, hacen que haya una regulación en la concentración del músculo, ayudándose a la coordinación de la inhibición autógena (Lord et al., 2018).

### **I.2.3 Envejecimiento de la Visión**

La pérdida de visión se debe a la disminución en el número de células receptoras de la retina y en el número de nervios en las vías visuales, lo que causa un impacto negativo en la percepción y el análisis de los detalles y la profundidad de la imagen, la degradación de la capacidad de adaptación a la oscuridad, y la pérdida de visión periférica (Rodríguez et al., 2022).

### **I.2.4 Envejecimiento del Sistema Vestibular**

Los canales y órganos otolíticos que se encuentran en el sistema vestibular cumplen la función de mantener en equilibrio a la persona mientras se encuentra de pie, en movimiento y para controlar la navegación (Bernal, et al., 2011). Existen síntomas que podemos observar

si hay un deterioro en este sistema con la edad; los cuales serán vértigo, mareo y náuseas. Además, habrá un deterioro en el reflejo vestíbulo-ocular, responsable en la estabilización de la visión durante los movimientos, ósea un deterioro entre el sistema vestibular, el equilibrio y la velocidad de la marcha en adultos mayores (Kerber et al., 2006).

### **I.2.5 Envejecimiento en el Sentido del Gusto y del Sistema Gastro-Intestinal**

En el envejecimiento existe una mayor confusión entre lo salado y lo agrio, además de una degeneración en la saliva, la cual es esencial para la deglución, el habla, el gusto y pérdida total y parcial de piezas dentales (Rodríguez et al., 2022).

Por otra parte, existe un deterioro en la función del sistema gastro-intestinal, incluyendo la función inmune, la cual se ve afectada en intolerancia de nutrientes ingeridos o encontrados en la microbiota (Soenen et al., 2016). La regulación del apetito y energía, contribuye a la llamada anorexia del envejecimiento, afectando la pérdida de peso y al músculo esquelético (Wysoki & Sobów, 2015). Hay decremento en la secreción del ácido del estómago (lo que, dada su importancia en la defensa no inmunológica contra patógenos adquiridos (Connor & Moráin, 2014), predispone al desarrollo de bacterias, lo cual se ha asociado con un bajo peso corporal e ingesta reducida de micronutrientes (Gil-Montoya et al., 2015). La disfunción de la barrera intestinal puede estar relacionada con atrofia de la mucosa y daño a la estructura epitelial con proteína de unión en adultos mayores (Connor & Moráin, 2014). También el envejecimiento se asocia con disminución en el número de glándulas de Brunner en el duodeno, al igual que estreñimiento, incontinencia fecal, diarrea (Wysoki & Sobów, 2015), asociada con cambios de estructura en el páncreas y disminución en concentraciones de lipasa, lo cual comprenderá la absorción de lípidos (Maynard & Weinkove, 2018).

El tracto gastrointestinal representa el órgano inmunológico más grande en términos de linfocitos. Los cambios en la función inmunológica de la mucosa están relacionados con el equilibrio entre las citocinas inflamatorias y antiinflamatorias (Wysoki & Sobów, 2015).

### **I.2.6 Envejecimiento del Sistema Cardiovascular**

Los cambios en la estructura y la función cardiovascular propios de la senescencia facilitan el desarrollo de diversas ECVA, debido a que con la edad, la pared de la aorta y las arterias centrales elásticas se engruesan por crecimiento de las capas íntima y media, debido

a la proliferación de células musculares lisas, invasión por células madre hematopoyéticas de la médula ósea, aumento de la matriz intercelular y tejido colágeno, además de fractura de fibras elásticas (Lakatta & Levy, 2003). Existe una disfunción endotelial alrededor de los 60 años, este jugará un rol crítico en la génesis de ateromatosis (preferiblemente en la aorta), considerado un alto factor de riesgo de enfermedad arterial clínica, que normalmente se distiende con el latido cardíaco y aumenta su rigidez provocando: aumento de la amplitud, velocidad de la presión (distinción de la presión sistólica y diastólica) y onda de pulso (O'Rourke and Hashimoto 2007). También se observa un incremento de la masa cardíaca del ventrículo izquierdo por hipertrofia del cardiomiocito (Lakatta & Levy, 2003).

### **I.2.7 Envejecimiento del Sistema Respiratorio**

Los cambios en el envejecimiento se explican por la disminución lenta y progresiva de: 1) la presión de retracción elástica del pulmón, determinada por las fibras elásticas del tejido pulmonar y por la tensión superficial del líquido que recubre el interior de los alvéolos. Esta alteración genera un aumento de la distensibilidad pulmonar (característico del pulmón envejecido y también de lo que se conoce como enfisema) (Enright et al., 1994). 2) la distensibilidad del tórax (Oyarzún, 2009). 3) de la fuerza de los músculos respiratorios; los factores propios del músculo que explican este decremento será la hipoplasia de fibras musculares y la disminución del número de neuronas periféricas, interferencias en el transporte activo del ion de calcio en el retículo sarcoplasmático, disminución de la síntesis de miosina de cadena pesada y de la generación de ATP mitocondrial (Rodríguez-Roisin et al., 1999).

### **I.2.8 Envejecimiento del Sistema Genito-Urinario**

Los riñones van perdiendo peso, además experimentan una disminución gradual en la velocidad de filtración en sangre y se estrechan las arterias que los irrigan, debido a ello no suministraran suficiente sangre, por lo que habrá un decremento en las paredes de las pequeñas arterias, provocando deterioro en la capacidad de nefronas, para eliminar productos de desecho y medicamentos, así como la incapacidad para concentrar o diluir la orina para eliminar ácidos (Terry & Preminger, 2019). Existe un cambio notable en la vejiga y la uretra (en mujeres se reduce el tamaño y revestimiento se vuelve más fino) en la vejez. La capacidad de la persona para demorar la micción después de haber sentido necesidad de orinar se



reduce; la cantidad de orina residual aumenta, por lo que se orina con más frecuencia y se presenta mayor riesgo de infecciones de vías urinarias, al igual que de incontinencia urinaria. Mientras tanto, la próstata tiende a agrandarse, obstruyendo el flujo urinario, el cual ocasionará una retención urinaria y posiblemente lesión renal (Terry & Preminger, 2019).

### **I.3 Fragilidad**

El envejecimiento no es homogéneo, en este período de vida, se puede presentar el síndrome de fragilidad, que se define por aspectos biomédicos o psicosociales. Es un síndrome geriátrico fisiológico caracterizado por la disminución de la reserva y resistencia a factores estresantes como resultado del declive acumulativo en múltiples sistemas fisiológicos, generando vulnerabilidad hasta la muerte (Walston et al., 2006). En la actualidad, existen varias definiciones de fragilidad, lo que dificulta el descubrimiento y verificación de biomarcadores relacionados con el diagnóstico, cribado e investigación de este síndrome, que incluye discapacidad, comorbilidad o vejez avanzada.

Para operacionalizar y estandarizar la definición del síndrome de fragilidad, se utilizan comúnmente dos modelos complementarios. Fried et al. (2001) propusieron un fenotipo de fragilidad (FF) definición basada en reglas) según el cual se considera que los individuos son frágiles cuando presentan simultáneamente tres o más de los cinco déficits enumerados (pérdida de peso no intencional, debilidad, bajos niveles de actividad física, lentitud, poca resistencia y energía). Aquellos sin características asociadas al síndrome de fragilidad se consideraron robustos, los que cumplían con una o dos características se consideraron en una etapa de pre fragilidad y con más de dos, fragilidad. El fenotipo de fragilidad (modelo de Fried) se usa con frecuencia, aunque se enfoca más en evaluar de la función física, dando poca consideración a la salud mental y comorbilidades (Gray et al., 2013).

Otro modelo del síndrome de fragilidad es el propuesto por Rockwood & Mitnitski (2007), donde la fragilidad se define en términos de acumulación de déficits en múltiples aspectos. Los autores diseñaron el índice de fragilidad (IF), que considera una serie de marcadores del estado de salud (típicamente 30 a 40 elementos, por ejemplo, presencia o ausencia de una condición médica particular o desempeño deficiente en una serie de tareas funcionales). El déficit se indica asignando el valor 1 y la ausencia el valor 0. Por tanto, esta escala mide el grado de fragilidad de una persona (Rockwood, et al., 1994; Rockwood y

Mitnitski, 2007). Algunas investigaciones han encontrado que el IF es confiable y preciso (Caoimh et al., 2019). Además, se ha observado que esta escala es más replicable y receptiva que el FF (Feenstra et al., 2021). Gracias a este modelo se puede predecir la salud y la mortalidad, así como la identificación de individuos con alto riesgo de muerte y la acumulación de déficits individuales, utilizando modelos computacionales, como se observa en las investigaciones de Rutenberg et al (2017), donde se generaron varios modelos individuales de trayectorias de salud humana según la edad. En este aparecen nodos específicos de diferentes redes como fragilidad, déficits fisiológicos, actividades de la vida diaria, lesión y muerte. Estos nodos establecen nuevas conexiones, creando modelos que facilitan la comprensión del daño localizado, causado por la fragilidad (Rutenberg et al., 2017; Farrell et al., 2020). Este enfoque evalúa e identifica una gran cantidad de indicadores potenciales (Collerton et al., 2012), combinando estas medidas de biomarcadores en el IF para permitir la detección de un efecto sistémico que podría enmascarse si estas variables se usaran de forma aislada (Mitnitski, 2015). Además, esta herramienta refleja la acumulación de daño en todo el organismo debido a procesos de reparación macroscópico (funcionales y cognitivos) y alteración microscópica (déficit a nivel de tejido y células) (Howlett & Rockwood, 2013; Yin, 2020). Cuando se utiliza el IF, se deben tener en cuenta la etnia y los factores sociales. Por ello, existen varios índices de fragilidad validados a nivel mundial, para ser utilizados de acuerdo a las características de la población a estudiar. Un ejemplo de IF es el Índice de Fragilidad-Valoración Integral Geriátrica (IF-VIG), que se desarrolló para reconocer la progresión de la fragilidad agrupándolo en cuatro categorías comúnmente utilizadas en la práctica clínica: sin fragilidad (puntuación del IF-VIG < 0.2), fragilidad leve (puntuación del IF-VIG 0.2 –0.35), fragilidad moderada (puntuación del IF-VIG 0.36-0.5) y fragilidad severa (puntuación del IF-VIG > 0.5), en población española mayor. Este índice consta de 22 preguntas que se utilizan para evaluar 25 déficits de ocho dimensiones diferentes, proporcionando una puntuación final que va de 0 a 1 (Amblás-Novellas, et al., 2017).

Algunos cambios moleculares en el síndrome de fragilidad de los ancianos se reflejan en biomarcadores. Por lo tanto, el estudio de estos cambios podría ser útil en la detección y el diagnóstico del síndrome de fragilidad. Como se analiza en las siguientes secciones, la inflamación es uno de los signos más relevantes del envejecimiento y podría ser una posible vía patogénica subyacente que vincule la fragilidad y el envejecimiento.

## I.4 Sistema Inmunológico en el Envejecimiento

Existen cambios significativos en el sistema inmunológico en el envejecimiento, que afecta tanto a la función y eficacia inmunitaria, y se conocen como inmunosenescencia (Wilson et al., 2017). Se cree que los efectos adversos del deterioro inmunitario asociado con la edad se manifiestan en un mayor riesgo de infecciones y cáncer, en una menor respuesta a las vacunas y un aumento en enfermedades auto inflamatorias (Wilson et al., 2017; Fulop et al., 2018). Si una infección no es controlada de manera efectiva por el sistema inmunológico, podrá volverse crónica y eventualmente conducir a enfermedades inflamatorias crónicas y/o enfermedades relacionadas con la inflamación (enfermedades neurodegenerativas, ECVA, DM, fragilidad y algunos tipos de cáncer). Por lo tanto, se considera que la disminución de la fuerza de respuesta inmunitaria con la edad es una de las causas de la morbilidad y la mortalidad (Niebla-Cárdenas et al., 2022).

En el deterioro inmunitario asociado al envejecimiento, se producen marcados cambios cuantitativos y cualitativos en los linfocitos. El número de células T vírgenes se reduce significativamente, probablemente debido a los efectos a largo plazo de la involución tímica y el agotamiento de las reservas debido a los contactos con antígenos durante la vida (Fulop et al., 2018). Esto hace que sea más difícil para los ancianos luchar contra los nuevos desafíos patógenos o generar respuestas inmunitarias efectivas a las nuevas vacunas. Por el contrario, aumentan las células T de memoria, específicamente de citomegalovirus (CMV), lo que provoca una infección persistente y una estimulación inmunitaria (Pawelec, 2018). Además, esta estimulación crónica puede conducir al agotamiento de las células T, lo que afecta la función efectora de las células T (Fulop et al., 2018). Los cambios cuantitativos en el compartimiento de células T incluyen una inversión de la relación CD4/CD8 (Wikby et al., 2005). El repertorio de receptores de células T también se reduce en la inmunosenescencia (Egorov et al., 2018; Thomas et al., 2020). Ver [Fig. 1](#).

Otro efecto de la involución tímica es la disminución de la eficiencia del proceso de educación tímica, de modo que más células T autorreactivas escapan a la periferia, lo que aumenta el riesgo de respuestas autoinmunes y promueven la inflamación en el cuerpo (Egorov et al., 2018; Thomas et al., 2020). En términos de linfocitos B, se reduce la cantidad de células plasmáticas en la médula ósea de las personas mayores y, en algunos casos, hay menos cambios de clase e hipermutación somática. Estos cambios pueden dificultar la

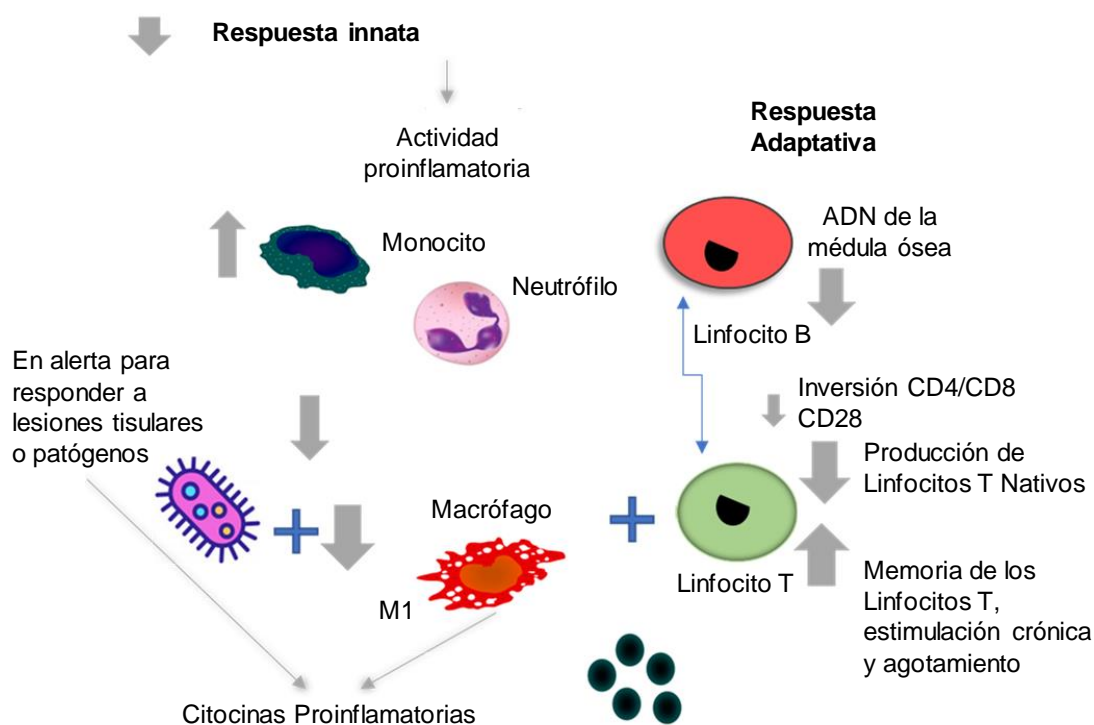


Fig. 1. La Inmunosenescencia interfiere en una serie de aspectos de las células inmunitarias innatas y adaptativas, como la involución tímica, las respuestas alteradas de las células T y B, el aumento de los niveles séricos de IgG e IgA y la inflamación crónica de bajo grado. Autoría propia, sacado de: *Translational Research into frailty from bench to bedside: Salivary biomarkers for inflammaging.*

respuesta a la vacuna y la inmunidad a largo plazo debido a una respuesta de anticuerpos comprometida (Ventura and Casciaro et al., 2017; Frasca et al., 2020).

A medida que se han realizado más estudios en humanos, se ha vuelto cada vez más difícil rastrear las consecuencias para la salud del deterioro inmunológico, debido al envejecimiento (López-Otín, et al., 2013; Fulop et al., 2018). En el síndrome de fragilidad, la evidencia respalda las alteraciones en el compartimiento de células T del sistema inmunitario adaptativo. El primer conjunto de evidencias, proviene de resultados de un análisis post hoc del estudio de control de casos anidados donde mostró, que las mujeres mayores frágiles tenían recuentos significativamente más altos de células T CD8+ y CD8+CD28-, mientras que las frecuencias de células T CD4+ eran significativamente menor en los frágiles que en los no frágiles (Semba et al., 2005).

Otra evidencia proviene del estudio de cohorte multicéntrico (MACS) del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), donde los pacientes con infección por VIH tenían una

mayor vulnerabilidad al fenotipo de fragilidad, que se determinó mediante recuentos de células T CD4+, independientemente de la carga viral del VIH en plasma o terapias antirretrovirales (Desquilbet et al., 2007; Desquilbet et al., 2009). Finalmente, la evidencia de un estudio piloto mostró que las personas frágiles tenían recuentos más altos de células T, que se expresaron en el receptor de quimiocinas CC 5 (CCR5), lo que provocó un fenotipo proinflamatorio tipo 1 (Loetscher et al., 1998) y, contribuyendo significativamente a varias condiciones inflamatorias en comparación con las personas no frágiles (Loetscher et al., 1998). El aumento de la frecuencia de células T CCR5+ en adultos mayores frágiles no se atribuyó al síndrome de fragilidad asociada a las células T CD8+, y se observó un aumento gradual en los recuentos de células T CCR5+ (De FU, et al., 2008).

Otro fenómeno relacionado con el deterioro inmunológico asociado con la edad y con el brazo innato del sistema inmunológico es la inflamación. Como se discutirá en la siguiente sección, la inflamación es una respuesta inflamatoria crónica, subclínica y estéril en el cuerpo que surge en la vejez (Pansarasa et al., 2019). Esta respuesta inflamatoria se correlaciona con muchos síndromes geriátricos, incluida la fragilidad.

## **I.5 Inflamación y Fragilidad**

La inflamación es una respuesta inmune compleja a estímulos dañinos, como patógenos, irritantes o células dañadas. Una vez que un patógeno atraviesa las barreras fisiológicas, físicas y químicas del cuerpo, la respuesta inflamatoria del sistema inmunitario innato es la primera línea de defensa para eliminar el patógeno (Prasad, et al., 2016). Esta respuesta es fundamental para limitar la propagación de patógenos o la acumulación de células dañinas en el cuerpo. Sin embargo, la destrucción concomitante del tejido circundante sano resultante del efecto espectador requiere un control estricto de este proceso. Por lo tanto, se requieren mecanismos antiinflamatorios como la secreción de IL-10 para limitar el daño causado por la respuesta inflamatoria (Lopez et al., 2021). En las personas mayores, la inflamación se asocia con morbilidad, disminución de la autonomía funcional y fragilidad (Pansarasa et al., 2019). La relación del síndrome de fragilidad con algunas lipoproteínas también podría explicarse indirectamente por la inflamación: una disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) está relacionada con un aumento del estado inflamatorio (Abbatecola, et al., 2004). Por lo tanto, un aumento del colesterol HDL también

se relaciona con la discapacidad, mortalidad y disminución de longevidad y, como tal, es un factor determinante del síndrome de fragilidad (Fulop et al., 2018).

El delicado equilibrio entre los mecanismos proinflamatorios y antiinflamatorios se inclina hacia el lado proinflamatorio con el envejecimiento. Este fenómeno se denomina inflamación añosa “inflammaging” y se desencadena por una inmunidad innata no específica. La inflamación se caracteriza por un estado inflamatorio crónico, sistémico y de bajo grado en ausencia de infecciones, que puede mediar tanto en el daño tisular, como el daño endotelial (Franceschi et al., 1995). Se manifiesta a través de niveles séricos elevados de citocinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ ), proteína C reactiva (PCR) y disminución de citocinas antiinflamatorias como Interleucina 10 (IL-10) (Bailys et al., 2013; Juárez-Cedillo et al., 2019).

Las causas subyacentes de la inflamación no se han dilucidado claramente, son multifactoriales, están relacionadas con agentes infecciosos encontrados a lo largo de la vida, incluyendo infecciones virales latentes o persistentes (Haq & McElhaney, 2014), cambios en la microbiota y disfunciones metabólicas y celulares (absorción de toxinas bacterianas como LPS) (Li et al., 2011; Lee et al., 2016; Cardoso et al., 2018). Más específicamente, se cree que la inflamación es el resultado de los efectos acumulativos de la estimulación y el ataque de la autofagia defectuosa, la pérdida de la homeostasis de las proteínas y el aumento del estrés endoplásmico que aumenta la “basura celular”, como las proteínas mal plegadas, la disfunción mitocondrial y el estrés oxidativo, las células T senescentes, perfil secretor de células senescentes (fenotipo secretor asociado a la senescencia, SASP), disbiosis de la microbiota intestinal e intestino permeable (Fulop et al., 2018; Fülöp et al., 2019). Estos eventos culminan con el ensamblaje del inflamasoma NLRP3 y la secreción asociada de citocinas proinflamatorias (López-Otín et al., 2013).

Los principales actores inmunitarios en la inflamación son los monocitos y macrófagos, especialmente los subtipos M1 que producen citocinas y quimiocinas proinflamatorias (Li et al., 2011; Munawara et al., 2021). Las células inmunes también cambian la expresión de su marcador de superficie y son menos eficientes en la producción de especies reactivas de oxígeno. Estas células se encuentran en un estado de parálisis inmune y favorecen la producción de citocinas proinflamatorias frente a las antiinflamatorias. La parálisis inmune podría deberse al aumento de los niveles de cortisol. Este aumento de cortisol es un

mecanismo compensatorio de la disminución de los niveles de dehidroepiandrosterona (DHEA) que se produce con el envejecimiento fisiológico. Tras una respuesta de estrés en un contexto de envejecimiento, no se produce una recuperación completa de todas las funciones celulares innatas (Namioka et al., 2017) ver Fig. 2

El sistema de información integrado y flexible (SASP) es uno de los vínculos que unen la inflamación, el envejecimiento adverso y la fragilidad. La senescencia celular está asociada con la detención del ciclo celular, la resistencia a la apoptosis y los telómeros acortados (Thomas et al., 2020). Las células senescentes se acumulan en múltiples tejidos durante el envejecimiento debido a la eliminación comprometida de los leucocitos. Las células senescentes tienen un SASP único que incluye muchas citoquinas proinflamatorias, interleucinas, colagenasa intersticial (MMP1) o colagenasa 3 (MMP13) (Coppé et al., 2008) que juegan un papel importante en muchas enfermedades, como las complicaciones ateroscleróticas (Namioka et al., 2017).

La inflamación es uno de los factores que contribuyen a las dolencias relacionadas con la edad y la fragilidad, incluidas la enfermedad neurológicas y ECVA (Thomas et al., 2020).

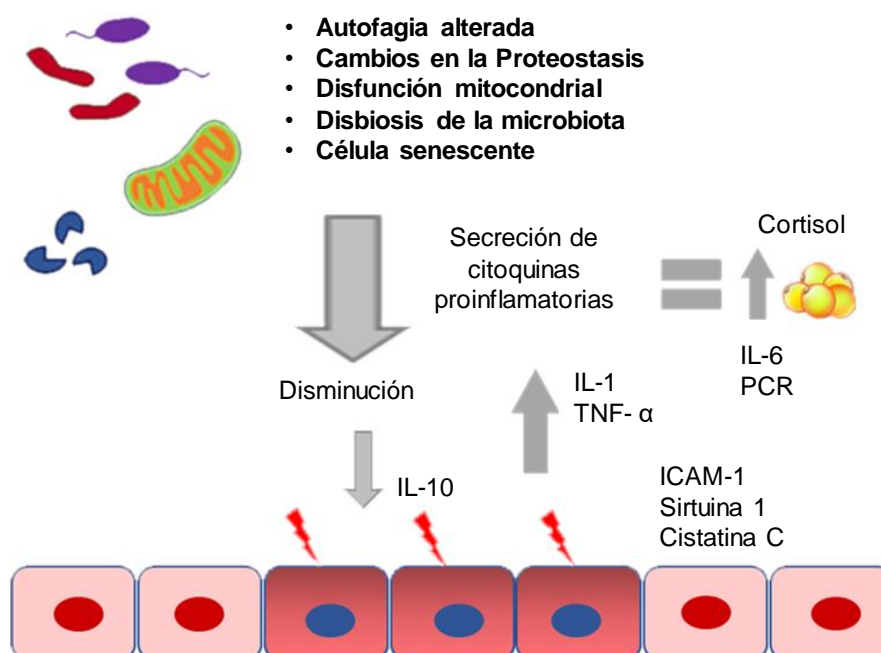


Fig. 2. En la Inflamación hay varios factores pueden desregular la homeostasis intracelular durante el envejecimiento, intensificando la secreción de citocinas y quimiocinas inflamatorias. Autoría propia, sacado de: *Translational Research into frailty from bench to bedside: Salivary biomarkers for inflammaging.*

### **I.5.1 Pautas para seleccionar biomarcadores inflamatorios potenciales del síndrome de fragilidad**

Es necesario pautas adecuadas para la selección de biomarcadores potenciales cuya presencia o alteración pudiera estar relacionada con el síndrome de fragilidad. Sin embargo, esta no es una tarea fácil, ya que los cambios moleculares asociados con el envejecimiento aún no se comprenden bien ni se caracterizan sistemáticamente, ya que sería necesario definir un panel específico de biomarcadores útiles para el diagnóstico y/o pronóstico. Recientemente, se han establecido estudios clínicos centrados en criterios de valoración, examinando diferentes biomarcadores candidatos, para identificar marcadores conocidos y nuevos asociados con el envejecimiento, la enfermedad y su relación con el proceso de envejecimiento. Entre estos estudios, se describirán brevemente dos, ya que han servido como ejemplos en el diseño e implementación de la investigación. El primero, Targeting Aging with Metformin “TAME” (Justice et al., 2018), se basa en una intervención guiada por la gerociencia. Este modelo fue propuesto por los grupos de trabajo de definiciones de biomarcadores del Instituto Nacional de Salud (NHI) y los marcadores de orientación de la Agencia de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA). Esta investigación involucró un ensayo clínico aleatorizado doble ciego (duración de 6 años) que usó metformina para atacar las vías de envejecimiento molecular. El objetivo fue alargar la vida humana mediante la prevención y reducción de la incidencia de multimorbilidad y deterioro funcional provocados por los biomarcadores presentes en esta población. En ausencia de un conjunto de biomarcadores de envejecimiento específicos para dichos estudios, se convocó a un panel de expertos para seleccionar los biomarcadores de acuerdo con los siguientes criterios: (i) confiabilidad y viabilidad de la medición de biomarcadores en un entorno clínico; (ii) relevancia del biomarcador en el envejecimiento para asegurar que los cambios fueran constantes; (iii) datos consistentes del biomarcador para predecir la mortalidad por todas las causas, los resultados clínicos y funcionales; y (iv) capacidad de respuesta a la intervención en un corto período de tiempo. En este ensayo se incluyeron marcadores bioquímicos, medidas clínicas y fisiológicas (velocidad de prensión, fuerza de prensión, evaluación cognitiva, espirometría, presión arterial, entre otros) que debían ser apropiados para la población y el tamaño, la duración, el costo y la logística. La muestra estaba compuesta por una población masculina y femenina no diabética de 65 a 80 años de edad. Inicialmente, se seleccionaron 258 biomarcadores relacionados con el envejecimiento o



enfermedades relacionadas con la edad: 229 de 258 se basaron en una revisión exhaustiva de la literatura, mientras que 29 se seleccionaron clínicamente (cáncer, cognitivo, cardiovascular, etc.) durante el proyecto. Siguiendo los criterios de selección de biomarcadores, se omitieron 77 biomarcadores porque no estaban basados en sangre. Otros 39 biomarcadores fueron excluidos debido a la baja confiabilidad y viabilidad en ensayos grandes o porque requerían un ensayo de inmunoplex, que puede ser confiable, pero no a gran escala, además de mostrar inconsistencia en la detectabilidad de varias citocinas que formaban parte de estos biomarcadores. Como resultado, se evaluó el uso de 86 biomarcadores, con base en: (i) frecuencia de uso; (ii) utilidad para el diagnóstico o seguimiento de la enfermedad clínica; y (iii) opinión de expertos (relevancia e impacto en la literatura a través de PubMed y datos publicados en Diabetes Prevention), sobre la magnitud del efecto del biomarcador en las publicaciones, la validez aparente del biomarcador y la sensibilidad al cambio en un marco de tiempo mínimo de 6 años. Cabe señalar que cada biomarcador se cribó por separado para cada enfermedad clínica y funcionalidad, excluyéndose las enfermedades agudas o graves por la diferencia en los resultados obtenidos. Además, se calculó el tamaño del efecto estimado con cada causa de muerte y se realizó un cribado de las intervenciones y cambios porcentuales. Si estos estaban disponibles, el biomarcador se consideró adecuado para ser evaluado utilizando el tratamiento con metformina y comparándolo con el grupo de referencia o control. Con base en este proceso sistemático, solo 8 biomarcadores fueron adecuados para el estudio en este ensayo en los siguientes niveles: Inflamatorio (IL-6, TFNRIII, CRP), respuesta al estrés y mitocondrias (GDF15), señalización de nutrientes (IGF-1), envejecimiento renal (CYTC) cardiovascular (NT-proBNP) y envejecimiento metabólico (hemoglobina A1c). La combinación de biomarcadores fue capaz de predecir con mayor precisión la morbilidad, discapacidad y mortalidad. El reloj epigenético de un biomarcador de envejecimiento estuvo fuertemente asociado con la edad cronológica y predijo el riesgo de mortalidad y los resultados clínicos, aunque aún no se ha probado epidemiológicamente.

El segundo estudio (Ahadi et al., 2020) fue una cohorte de 106 personas sanas de 29 a 75 años de edad que fueron examinados por diferentes tipos de medidas ómicas (transcritos, proteínas, metabolitos en células mononucleares sanguíneas y ensayos de citocinas en suero en ensayos clínicos). Los microbiomas nasales e intestinales se analizaron mediante secuenciación de ARNr 16S en una visita trimestral hasta 4 años con muestras adicionales

adquiridas durante un período de estrés fisiológico. Se identificó un nuevo marcador relacionado con la edad al comparar individuos resistentes a la insulina (RI) con individuos sensibles a la insulina (SI). Se analizaron las células mononucleares de sangre periférica y se obtuvieron 51 pruebas de laboratorio de cada participante por visita, lo que generó 18 millones de observaciones. El envejecimiento se identificó a través de cambios en los niveles de marcadores durante un período corto de tiempo (2 a 3 años) y definió tipos de vías moleculares que también cambiaron con el tiempo en individuos específicos, conocidos como ageotipos, que brindan una evaluación molecular del envejecimiento personal reflejando el estilo de vida de cada sujeto, lo que fue útil en este estudio para monitorear e intervenir en el proceso de envejecimiento. Para comprender los patrones entre los individuos y realizar análisis ómicos, se hicieron tres tipos de análisis de identificación 1) reconocimiento de marcadores y vías que estaban asociados con la edad de los individuos. 2) identificación del envejecimiento molecular, diferenciando entre participantes que eran resistentes a la insulina y aquellos que eran sensibles a la insulina y 3) descubrimiento de marcadores personales y vías que diferían entre los individuos a medida que envejecían.

Este fue un análisis sistemático para encontrar marcadores (expresión de la mediana de genes, proteínas plasmáticas, metabolitos, citoquinas, microbios y marcadores clínicos) que mostraron una fuerte correlación (utilizando la prueba de Spearman) con la mediana de edad de cada participante del estudio. Tras el análisis del índice de masa corporal (IMC) y el sexo, los resultados identificaron 184 moléculas con diferentes tendencias y niveles de asociación positiva y negativa. Con respecto a las vías biológicas relacionadas con la edad, hubo una importante elevación de la respuesta de movimiento de fase aguda, receptor tipo Toll, vías inflamatorias y de coagulación de los diferentes tipos de moléculas. Diez de las 184 moléculas encontradas en esta investigación se identificaron en el grupo resistente a la insulina, mientras que ninguna se encontró en el grupo sensible a la insulina. Este estudio ha demostrado cómo con el tiempo los individuos son capaces de cambiar. El análisis de los analitos recolectados de 43 sujetos en 5 visitas médicas durante 700 días mostró cambios significativos. No se observó una correlación significativa entre la ingesta dietética y el tiempo en 28 sujetos con hábitos dietéticos (evaluados mediante pruebas de alimentación estandarizadas). Se observó que las ingestas dietéticas eran generalmente estables y que la alteración de la dieta no era responsable de los cambios longitudinales en los marcadores clínicos.

El objetivo de identificar, seleccionar y estudiar biomarcadores relacionados con la edad en ambas investigaciones se cumplió, pero la sistematización para lograrlo es bastante diferente y en ocasiones puede resultar compleja. Se observó las estrategias de observación y dirección realizadas por Justice et al. (2018) que iban de lo general a lo específico, este seleccionó un gran número de biomarcadores para su estudio y se descartó paulatinamente hasta quedar solo ocho biomarcadores que cumplieran con los criterios previamente establecidos (que estaban más centrados en la presencia del biomarcador en la literatura y la opinión de los expertos).

Los biomarcadores estudiados fueron plasmáticos, descartando otro tipo de fluidos, centrándose en el nivel clínico (enfermedades además de funcionalidad) y aquellos cambios observados a lo largo del tiempo. Por su parte, el estudio de Ahadi et al. (2020) utiliza el análisis ómico, que en la actualidad sigue siendo un área poco explorada en el estudio de biomarcadores de cualquier fluido (líquidos proximales y periféricos). Esto es particularmente cierto en una población que envejece, donde la estrategia de análisis de biomarcadores puede ir de lo específico a lo general, ya que este estudio se enfoca en los participantes individuales. Entre los 106 sujetos del estudio, se identificaron patrones moleculares de RI o SI en cada participante, estudiando las relaciones de estas moléculas con la nutrición, la actividad física y la medicación. Ambos estudios destacan la importancia que tiene el sistema inmunitario en el envejecimiento debido a los cambios observados a lo largo del tiempo.

Sin embargo, a los efectos de esta investigación se optó por el estudio de Ahadi et al. (2020) ya que nuestra investigación abarca el estudio de biomarcadores salivales relacionados con factores físicos y funcionales del síndrome de fragilidad. Empezando por 36 marcadores asociados con deterioro cognitivo y fragilidad física. Estos incluyen niveles elevados de IL-6 (Wikby et al., 2005), proteína C reactiva (CRP), factor de necrosis tumoral (TNF-alfa y beta), ácido úrico, IL1-beta, IL1-alfa, velocidad de sedimentación de eritrocitos (ESR), relación cortisol/dehidroepiandrosterona, IL1RA, IL-13, CD4, CD8, IL6R, IL-18, receptor I de TNF-a (TNFR1), TGFbeta, IFNalfa, IFNbeta, cortisol, homocisteína, fibrinógeno, molécula adhesiva intercelular 1 (ICAM-1), células progenitoras osteogénicas circulantes (COP) y beta 2-microglobulina (B2MG) (O'Bryant et al., 2010; Lee et al., 2016; Ferrucci y Fabbri, 2018). Es importante mencionar que algunos estudios han relacionado la elevación de estas citoquinas proinflamatorias en la fragilidad cognitiva con la atrofia

hipocampal y talámica, la cual se asocia con niveles bajos de citoquinas antiinflamatorias, que causa deterioro cognitivo y reducción de la plasticidad neuronal, reflejándose en un deterioro de las FE, la VP y atención selectiva (Mooijaart et al., 2013; Namioka et al., 2017)

## **I.6 Proteínas Inmunes Estudiadas**

### **I.6.1 Glóbulos Blancos en Sangre Periférica**

Son células inmunitarias circulantes. Los recuentos de glóbulos blancos al igual que los neutrófilos aumentan en individuos frágiles. Los recuentos altos de glóbulos blancos predicen la el síndrome de fragilidad futuro en personas sanas de 60 años (Wilson et al., 2017). También se asocia con eventos cardio o cerebrovasculares y mortalidad por cáncer (De Martinis, et al., 2006; Li et al., 2011). Los neutrófilos son de suma importancia para la respuesta inflamatoria, ya que son los primeros leucocitos en llegar al sitio de la inflamación e iniciar la cascada de eventos que conducen a la inflamación. Los recuentos más altos de neutrófilos están asociados con una baja actividad física y el síndrome de fragilidad (Wilson et al., 2017). Con el envejecimiento, los neutrófilos pierden parte de su actividad química y quimiotáctica para neutralizar patógenos y, por lo tanto, pueden contribuir a la inflamación sistémica (Dewan et al., 2012). En el compartimiento de linfocitos, hay menos células T que expresan CD28 y los recuentos de CD4/CD8 se invierten en individuos frágiles según la respuesta inmune (Ventura et al., 2017).

### **I.6.2 Interleucina 6 (IL-6)**

Citocina proinflamatoria pleiotrópica implicada en la regulación de las respuestas inmunitarias. Es el estimulante más potente y ampliamente eficaz para la producción de proteínas de fase aguda por parte de los hepatocitos humanos (Tilg et al., 1994). La IL-6 también promueve la expansión y activación de las células T y la diferenciación de las células B. Se ha encontrado que los niveles de IL-6 son marcadores importantes para muchas enfermedades. Los niveles séricos altos (por ejemplo: 2.5 pg/ml) predicen discapacidad y fragilidad incidentes, en particular, una velocidad de marcha más lenta (Ferrucci et al., 1999; Ferrucci et al., 2005). Además, los niveles más altos de IL-6 se correlacionan con un mayor número de enfermedades crónicas (Fabbri et al., 2015), incluidas cardiovasculares,

neurológicas (demencia, enfermedad de Parkinson), musculoesqueléticas, cáncer, síndrome de fatiga crónica y depresión clínica (Hiles et al., 2012).

En el contexto del síndrome de fragilidad, el aumento de IL-6 se asocia con discapacidad cognitiva, sarcopenia y mortalidad (Wilson et al., 2017). Por el contrario, el polimorfismo de un solo nucleótido en el gen de la IL-6 que se asocia con niveles plasmáticos más altos de esta citocina es menos frecuente en los centenarios, lo que subraya la posible asociación de la IL-6 con la mortalidad y el envejecimiento no saludable (Wilson et al., 2017).

PCR, IL-6, TFN- $\alpha$  y recuento de neutrófilos mostraron asociaciones positivas con el modelo de Fried, el modelo de Rockwood y asociaciones inversas con la ALBU (Aziz et al., 2015). Los niveles elevados de PCR, IL-6 y TFN- $\alpha$  están asociados con la IR en sujetos ancianos no diabéticos (Abbatecola et al., 2004), enfermedad coronaria y eventos de insuficiencia cardíaca (Fulop et al., 2006). Los niveles elevados de IL-6 también se asocian con una limitación en las ABDV (Li et al., 2011).

### **I.6.3 Proteína C Reactiva (PCR)**

Proteína secretada por el hígado en respuesta a la IL-6, miembro destacado de las proteínas inflamatorias de fase aguda. Promueve la producción de citocinas proinflamatorias mientras circula en el plasma sanguíneo como un homopentámero estable. La PCR se une a la fosfocolina, un constituyente común de los recubrimientos de polisacáridos de patógenos bacterianos y membranas celulares de mamíferos. Luego actúa como opsonina, facilitando la fagocitosis de patógenos y células muertas o moribundas (Mortensen y Zhong, 2000; Volanakis, 2001). La PCR se considera un gran biomarcador de inflamación sistémica de importancia clínica (Stoner et al., 2013). Los niveles elevados en plasma están asociados con enfermedad vascular progresiva (Wang et al., 2011), edad, depresión (Duggal et al., 2014), sarcopenia, síndrome metabólico (SM) (Fulop et al., 2012), discapacidad y deterioro cognitivo en individuos mayores de 65 años, pero no siempre es un predictor significativo de mortalidad. Existe una estrecha correlación entre los niveles séricos de PCR y la IL-6. Se han encontrado correlaciones significativas entre los niveles de PCR y el agarre manual. Curiosamente, la PCR se ha convertido en un marcador del síndrome de fragilidad específico del sexo en el que sólo se ha establecido una asociación entre el síndrome de fragilidad y mujeres entre 60 y 90 años (Gale et al., 2013).

Es probable que los niveles de PCR en saliva y la PCR en sangre estén correlacionados porque la PCR se sintetiza principalmente en el hígado. No hay producción local de PCR en la boca y lo más probable es que llegue a la saliva a través de la sangre, por lo que hay una mayor dilución en los niveles de PCR salival (Ouellet-Morin et al., 2011). Out et al. (2012) sugieren que la PCR salival en niveles bajos es un buen indicador de PCR sistémica, mientras que, en niveles más altos, es menos probable que se correlacione con los niveles en sangre (Out et al., 2012), ya que puede indicar una infiltración anormalmente alta de sangre debido a inflamación local, daño tisular o mala salud bucal (Engeland et al., 2019).

#### **I.6.4 Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )**

Citocina proinflamatoria y un pirógeno endógeno producido por células asesinas naturales (NK), macrófagos, microglía y otros tipos de células (Slavish et al., 2015). También juega un papel en la estimulación de la respuesta de fase aguda y sus niveles aumentados están asociados con la longitud de los telómeros de los leucocitos (Pavanello et al., 2017). El TNF- $\alpha$  activan a las prostaglandinas y a otras sustancias relacionadas con la percepción del dolor y otros procesos en el cuerpo, incluida la remodelación de los tejidos y la apoptosis de las células tumorales y la desregulación (Fülöp et al., 2019; Goodsell, 2005). TNF- $\alpha$  es un biomarcador potencial para el síndrome de fragilidad (Hubbard et al., 2009). En personas mayores, el TNF- $\alpha$  se asocia con ECVA (Stoner et al., 2013), osteoporosis, enfermedad de Alzheimer (EA) (Franceschi et al., 2001), DM II (Recasens et al., 2005) y mortalidad (Giacomini et al., 2018).

La pentraxina 3 (PTX3) se secreta en respuesta al TNF- $\alpha$  por los macrófagos y los componentes de los vasos sanguíneos. Se ha asociado con pérdida de peso o delgadez en la población anciana hipertensa y sus altos niveles se asocian con deterioro cognitivo y potencialmente con el síndrome de fragilidad en esta población (Yano et al., 2010).

#### **I.6.5 Interleucina 1 (IL-1)**

Citocina proinflamatoria que mide la respuesta del huésped a la invasión microbiana, la inflamación, la lesión tisular y las reacciones inmunológicas (Garlanda et al., 2013). IL-1 $\beta$  es sinónimo de mediador endógeno leucocitario, factor activador de linfocitos, así como factor de células mononucleares, catabólico, factor activador de osteoclastos y hemopintina-

1 (Jandinski, 1988). La IL-1 $\beta$  se produce como resultado de la escisión proteolítica por parte del inflammasoma, principalmente por macrófagos y células epiteliales. Además de atraer leucocitos a los tejidos inflamados, la IL-1 $\beta$  también provoca la desgranulación de basófilos y eosinófilos, estimula la síntesis de tromboxano en macrófagos y neutrófilos y potencia la activación de neutrófilos por péptidos quimioatrayentes. La IL-1 $\beta$  es mitógena para las células mesangiales del riñón, las células gliales del cerebro y los queratinocitos (Ganter et al., 1989).

Junto con las otras citoquinas proinflamatorias TFN- $\alpha$  e IL-6, la IL-1 $\beta$  juega un papel importante en la sensibilidad al dolor (Mika et al., 2013) y la fatiga que puede restringir la actividad física y contribuir al síndrome de fragilidad (Thoma et al., 2011). Un análisis realizado en pacientes geriátricos admitidos en el centro de trauma de un hospital mostró que las personas frágiles tenían niveles séricos de IL-1 $\beta$  más altos en comparación con las personas no frágiles (Palmer et al., 2019).

#### **I.6.6 Interleucina 4 (IL-4)**

Interleucina Th2 producida por linfocitos T, granulocitos y mastocitos (Landau et al., 2019). Tiene efecto antiinflamatorio, definida como una “citoquina inmunorreguladora prototípica” (Mika et al., 2013). Dada la asociación del síndrome de fragilidad con ECVA, esta citocina puede ser un biomarcador indirecto del síndrome de fragilidad.

#### **I.6.7 Interleucina 10 (IL-10)**

Citocina antiinflamatoria que inhibe la síntesis de numerosas citocinas (TFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2 y TFN- $\beta$ ) y suprime las respuestas proinflamatorias Th1. La secreción de IL-10 es baja en tejidos no estimulados y regula su propia expresión en un bucle de retroalimentación negativa. La IL-10 también mejora la supervivencia y proliferación de linfocitos B (Fulop et al., 2006), así como la producción de IgA, que es la principal inmunoglobulina en la inmunidad salival (Stoner et al., 2013). IL-10 es una miocina y el ejercicio fomenta un entorno de citocinas antiinflamatorias. La frecuencia del polimorfismo de un solo nucleótido de IL-10 aumenta los niveles séricos de esta citoquina, la cual se incrementa en los centenarios y se especula que es preventivo contra la sarcopenia (Wilson et al., 2017). En el síndrome de fragilidad, el papel directo de la IL-10 aún no está claro.

### **I.6.8 Molécula de Adhesivo Intercelular-1 (ICAM-1)**

Tiene altos niveles tanto en deterioro cognitivo como en el síndrome de fragilidad física (Lee et al., 2016). Este biomarcador está asociado con una mayor producción de IL-6 y TNF- $\alpha$ , lo que sugiere que está relacionado con la cascada proinflamatoria (McCabe et al., 1993).

### **I.6.9 Albúmina (ALBU)**

Proteína abundante en los fluidos corporales (plasma, líquido sinovial y líquido cefalorraquídeo), que funciona como proteína transportadora. Está involucrado en la respuesta inflamatoria del cuerpo ante infecciones y/o condiciones agudas y/o crónicas que se asocian con un estado inflamatorio persistente de bajo grado, como la obesidad. Los niveles bajos de albúmina sérica y plasmática se asocian prospectivamente con una mayor fragilidad y mortalidad (Phillips et al., 1989; Yanagita et al., 2020). Se ha propuesto que esta hipoalbuminemia sea un indicador de desnutrición.

Por lo tanto, la ALBU es un biomarcador potencialmente relacionado con el síndrome de fragilidad como resultado de la compleja interacción del sistema nervioso (SN), endocrino, inmunológico y la dieta, los cuales son factores importantes que contribuyen a el síndrome de fragilidad.

### **I.6.10 Cistatina-C (CYTC)**

La CYTC es un potente inhibidor de la cisteína proteasa. La CYTC es una proteína no glicosilada que tiene un peso molecular menor, cuya concentración está determinada por filtración glomerular, la cual cumple un papel fisiológico importante como regulador local de actividad de esta enzima, además se ha demostrado in vitro para regular ciertos aspectos del sistema inmunitario (Hart et al., 2013; Mussap & Plebani, 2004). Se ha encontrado que la CYTC tiene una mayor asociación con fractura de cadera (Ensrud et al., 2013), ECVA (Shilpak et al., 2005), mortalidad y enfermedad renal en etapa terminal. Se ha llegado a demostrar que es un mejor marcador, que la creatina en su estado basal (eGFR Cr). (Dalrymple et al., 2013; Hart et al., 2013). Altos niveles de CYTC (calculados en cuartiles) están asociados a una etapa intermedia de fragilidad y muerte, estos resultados son similares si valoramos los bajos niveles de eGFR CYTC en seguimiento, por lo que nos indican que el avance de fragilidad no es únicamente por CYTC, sino también del fallo renal y la



disminución de la eGFR CYTC, ante estos resultados existen otras investigaciones que demuestran que los altos niveles de CYTC se asocia con alto grado de fragilidad, independientemente de otros medidores biológicos y de un nivel normal del funcionamiento renal (Hart et al., 2013).

La relación entre CYTC y marcadores inflamatorios no está bien caracterizado, particularmente en personas sin complicaciones renales, pero se ha tratado de estudiar dicho problema, dando como resultado una correlación positiva en 5 biomarcadores TNF-a, sTNF-R1, and sTNF-R2, CRP y IL-6 (Keller et al., 2007), donde se ha demostrado que TNF-a es eliminado por el riñón, mientras que la PCR y IL-6 por el hígado.

Altas concentraciones de CYTC se asocian a alto IMC y bajos niveles de colesterol HDL y LDL, alta prevalencia de hipertensión sistémica (HAS), sarcopenia (Kim, 2016), pobre desenvolvimiento en la actividad física (Odden et al., 2006) y ECVA (Yaffe et al., 2008).

### **I.6.11 Cistatina D (CYTD)**

Cistatina salival, la cual tiene una distribución tisular muy restringida que comprende solo glándulas salivales y lagrimales (Collins & Grubb, 1998). Es un inhibidor lisosomal, que secreta cistatina proteasa y puede desempeñar un papel en el control de actividad proteolítica durante los procesos inflamatorios (Dyhrfort et al., 2018). El rango de las concentraciones normales en saliva va de 0.12 -1.9  $\mu\text{M}$  (Freije et al., 1993). La CYTD inhibe las catepsinas H, S y L, pero no la B, esta se purifica por la saliva e inhibe la proliferación, la migración y la invasión de células, lo que indica una actividad supresora, protectora contra los efectos potencialmente dañinos (Collins & Grubb, 1998), además de ser codificada por el gen CST5 (Balbin et al. 1993). El análisis transcriptoma también ha indicado que la CYTD podría alterar la expresión génica, incluida la de genes.

Investigaciones han demostrado que el CYTD es un potencial biomarcador para la detección de traumatismo craneoencefálico. Se ha encontrado en los arrays de citoquinas, una reducción de la secreción de varias citoquinas pro tumorales, como fibroblastos factor de crecimiento 4, CX3CL1/fractalkine, neurotrofina 4 oncostatin-M, quimiocina pulmonar, activación regulada de quimiocina/ CCL18, y factor de crecimiento transformante B3 (Ferrer-Mayorga et al., 2015).

### **I.6.12 Cistatina S (CYTS)**

Cistatina localizada en la saliva (Abrahamson et al., 2003), posteriormente se demostró que estos inhibidores también pueden encontrarse en lágrimas, orina y plasma seminal. Son proteínas no glicosiladas en 121 aminoácidos que se sintetizan con péptidos y sus secuencias maduras contienen los típicos motivos de las cistatinas tipo 2. La CYTS aparece en diferentes formas en la saliva, debido a la fosforilación parcial de los sitios. Los genes de CYTS están ubicados en el locus mutagénico del cromosoma 20, que podrían igualarse a la CYTD y ser vistas como cistatinas glandulares especializadas y funcionar en la secreción, como inhibidor de la defensa de las cisteínas peptidasas exógenas (Saitoh & Isemura, 1993). Esta tiene 50% de homología con la CYTC (Abrahamson et al., 2003). La familia de las cistatinas II, se localizan en el cromosoma 20, el cual incluye a las cistatinas C, D, S, SN y SA (Isemura et al., 1991).

Recientemente a esta proteínas se le ha considerado un biomarcador serológico novel para la detección precoz de cáncer colorrectal, gástrico y de ovario (Duo 2018; Wang et al., 2021; Cai et al., 2022)

### **I.6.13 Cistatina B (CYSB)**

Es una de las tres más importantes cistatinas a nivel funcional biológico. La cual se compone de 98 aminoácidos (27) y se ubica en el cromosoma 21 (Pennacchio et al., 1998). Esta cistatina es miembro de la familia de inhibidores de la cisteína proteasas. Presenta alteraciones de pérdida de función en el gen de la CYSB, ya sea a través de una unidad de repetición multiplicada en el promotor o a través de mutaciones puntuales en el gen estructural, se presenta en pacientes con epilepsia mioclónica progresiva, ataxia, retraso mental leve, demencia progresiva y susceptibilidad a la inflamación de la córnea debido al aumento de apoptosis en el cerebro y a la pérdida de células granulares del cerebelo, que con frecuencia muestran núcleos condensados ADN fragmentado y cambios celulares, lo cual se observó en el modelo de roedores presentado por Pennacchio (Pennacchio et al., 1998). Experimentos in vitro muestran que la CYSB es un inhibidor reversible de unión fuerte de las catepsinas B, H, L y S, y la cisteína proteasa vegetal papaína (Barrett et al., 1986). La agregación de proteínas puede ser secundaria a agresiones externas o al envejecimiento, sin embargo, las formas hereditarias de enfermedades neurodegenerativas como el EP,

Huntington o EA están directamente relacionadas con la agregación de proteínas mutantes. Agregados proteicos en forma de amiloide, ovillos neurofibrilares, inclusiones intracitoplasmáticas o intranucleares, conducen a una mayor producción de las especies reactivas de oxígeno y disfunción del sistema ubiquitina/ proteosoma. El período de supervivencia es variable y los síntomas motores progresan a medida que el paciente envejece.

#### **I.6.14 Factor Inhibidor de la Migración de Macrófago (MIF)**

Citocina proinflamatoria, la cual participa en la respuesta inmune innata como adaptativa a patógenos bacterianos, desempeñando un papel en el desarrollo y progresión de miopatías inflamatorias en varios músculos como el esquelético (Kanwar et al., 2018; Walston et al., 2006). Puede ejercer efectos apoptóticos de la proteína X similar a NIP3. La MIF regula la homeostasis de la glucosa y será importante para órganos del sistema músculo esquelético, especulamos que los niveles de la MIF pueden reflejar el estado de metabolismo de la glucosa en la sarcopenia (Kanwar et al., 2018). La expresión de MIF en los sitios de inflamación sugiere un papel mediador en la regulación de la función de los macrófagos en la defensa del huésped, contrarrestando la actividad antiinflamatoria de los glucocorticoides.

La MIF es uno de los biomarcadores inflamatorios existentes para el diagnóstico de la sarcopenia o ECVA, esta no actúa sola, sino actúa en compañía de más biomarcadores. Los niveles de esta proteínas también se elevaran en sujetos con deterioro renal y DM (Schöttker et al., 2013).

#### **I.6.15 CD44 Antígeno**

Es una glicoproteína transmembranal que juega un papel en las interacciones celulares, la adhesión y migración celular, ayudándolas a detectar y responder a los cambios en el microambiente tisular. EL CD44 es una célula multi estructural y multifuncional, la cual también es conocida como antígeno de Hermes, Pgp1, MDU3 y p80, se encuentra presente en linfocitos, timocitos y granulocitos (Dalchau et al., 1980). Esta ha sido reconocida como antígeno de superficie celular, localizado en las dendritas y axones de las neuronas; en roedores ha sido detectado en el giro dentado. El AH es uno de los principales componentes de la matriz extra celular y se liga con el CD44, el cual este se relaciona con el desarrollo de

células tumorales, su migración e invasión (Yoshida, et al., 2012), desarrollo neuronal, la plasticidad sináptica (aprendizaje y memoria), la epileptogénesis, respuesta a lesiones y neurodegeneración (Wlodarczyk et al., 2011). Se ha observado que el CD44 aumenta a medida que aumenta el grado del glioma. Este puede llegar a ser una diana terapéutica para los glioblastomas. El CD44 existe como una gran familia de isoformas que se producen por el empalme de hasta 20 exones, que generan 20 sitios de unión para cada isoforma (Naor et al., 1997). Las células madre tumorales y la inhibición de CD44 en glioblastomas puede tener efectos benéficos / terapéuticos sobre las células madre tumorales (Yoshida et al., 2012).

También existe un gran número de forma de CD44, también llamada CD44 estándar (CD44s), el cual tiene una combinación de variantes (CD44v) generadas mediante empalmes alternativos extensos y que contienen los exones “estándar” (Ponta et al., 2003). El CD44 se expresa predominantemente en la materia blanca del cerebro humano (principalmente en las células gliales, en particular astrocitos) de forma negativa (Bignami and Dahl et al., 1986). En roedores se ha detectado la unión neuromuscular del músculo esquelético (Gorelewicz et al., 2009). Estas se localizan en la corteza cerebral, putamen, tálamo, hipocampo, cerebelo, espina dorsal, quiasma óptico (Sretavan et al., 1994) y se produce una regulación al alza de CD44 en las motoneuronas faciales, pero no en los astrocitos de la materia gris (Jones et al., 1997). El CD44 está sujeto a proteólisis extracelular e intermembrana, los anticuerpos contra su extremo N podrán fallar al detectar la molécula en células, en las que la tasa de procedimiento proteómico es alta (Dzwonek & Wilczyński, 2015). El CD44 juega una importante función sensoriomotor y retención de memoria espacial (Naruse et al., 2013).

#### **I.6.16 Beta-2-Microglobulina (B2MG)**

Es un polipéptido de bajo peso molecular (11.800D), el cual forma una cadena ligera de antígenos del complejo de histocompatibilidad (MHC) de clase I, presente en la superficie de todas las células nucleadas. Es un marcador en diversas situaciones de activación inmunitaria como las infecciones virales, procesos inflamatorios y tumores (Gazapo & Caturra, 1996). Es sintetizado por linfocitos y sus concentraciones séricas o líquido cefalorraquídeo dependen de la renovación de la membrana celular y velocidad de aclarado, ya que se elimina por filtración glomerular, siendo reabsorbido y catabolizado en los tubos renales proximales (Bernier, 1980).

El B2MG es un marcador inflamatorio susceptible a la modificación de glicación avanzada, la cual estimula la B2MG secretando múltiples citocinas proinflamatorias y el TFN alfa de los macrófagos humanos (Wilson et al., 2017). Un estudio chino demostró que los niveles medios, (medidos por cuartiles de B2MG) tienen una relación significativa con el IF (1.8 mg/L and 0.16, respectivamente; 188 (11.3%). El B2MG tenía un mayor riesgo del síndrome de fragilidad prevalente con ajuste (95% CI: 1.04, 2.71; P = 0.034) para el FF y 1.51 (95% CI: 1.01, 2.27; P = 0.044) para IF, sin embargo, estos resultados no se encontraron con sujetos sin enfermedad renal o cáncer. Otra investigación ha demostrado elevados niveles de B2MG y bajos niveles de eGFRB2M, los cuales se asocian con la prevalencia del síndrome de fragilidad (Kim et al., 2017). Shinkai et al., (2003) encontraron que un alto nivel de B2MG, era un factor de riesgo común para la disminución funcional en adultos mayores sin discapacidad.

### **I.6.17 Citocromo C Oxidasa Polipéptido III (COX3)**

Tal como lo menciona Shoubridge (2001) el citocromo C oxidasa (COX) es la enzima terminal de la cadena respiratoria mitocondrial, la cual cataliza la transferencia de electrones desde el citocromo c reducido a oxígeno molecular. Se compone de 13 subunidades estructurales, tres de las cuales están codificadas en mtDNA y forman el núcleo catalítico de la enzima. La mayoría de las deficiencias de COX3 son trastornos autosómicos recesivos; las mutaciones en los genes de la subunidad COX3 se codifican por mtDNA y estas están asociadas con amplio espectro de fenotipos clínicos que van desde enfermedades aisladas, hasta enfermedades multisistémicas (Shoubridge, 2001). La pérdida de contenido y función mitocondrial suele observarse en la sarcopenia que afecta a los sujetos mayores, los cuales no todos llegan a una fractura de cadera, pero si a una discapacidad o multimorbilidad (Dodds et al., 2018).

## **I.7 Enfermedades Relacionadas con la Fragilidad**

### **I.7.1 Enfermedades Infecciosas asociadas a la Fragilidad**

Las respuestas inmunitarias alteradas relacionadas con el envejecimiento hacen que los ancianos sean más susceptibles a nuevas infecciones como la gripe. La población frágil, en

particular, es más susceptible a las enfermedades infecciosas que las personas más jóvenes (Matheï et al., 2011).

En los adultos mayores, las infecciones respiratorias también pueden afectar negativamente el estado de fragilidad durante y después de la recuperación de la infección.

La información actualmente disponible sobre la asociación de la fragilidad con la gravedad de las enfermedades infecciosas es limitada, sin embargo, se sabe que la fragilidad se ha asociado con una menor probabilidad de recuperación en personas mayores hospitalizadas por influenza y enfermedades respiratorias agudas (Lees et al., 2020). Hughes et al., (2019) encontraron que los episodios respiratorios más severos pueden tener un impacto perjudicial en la fragilidad en comparación con los episodios menos severos. A veces, las enfermedades respiratorias crónicas son exacerbaciones de enfermedades subyacentes (Hughes et al., 2019).

Con respecto a la influenza, la verdadera carga de esta podría durar más allá del período de la enfermedad y generar impactos duraderos en la salud del afectado. Las investigaciones informaron que la fragilidad de los adultos mayores hospitalizados con influenza y enfermedad respiratoria aguda se asocian con menores tasas de recuperación (Lees et al., 2020).

Investigaciones recientes en Asia han observado que la pre-fragilidad sólo se asocia con la aparición de neumonía, deterioro de la fuerza física, déficit del estado nutricional, deterioro de la función oral, depresión y confinamiento en el hogar. También se observó que la fragilidad en adultos mayores fue significativa en asociación con la hospitalización por neumonía en comparación con la no fragilidad (Iwai-Saito et al., 2021). El otro estudio realizado en China ha demostrado que la fragilidad aumenta la mortalidad a 1 año asociada a la neumonía adquirida en la comunidad y, por tanto, es un factor de riesgo de neumonía grave (Luo et al., 2020).

Otra infección viral respiratoria es la enfermedad por coronavirus (COVID-19) causada por el Síndrome Respiratorio Agudo Severo-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) (Goyal et al., 2020). El desarrollo de COVID-19 en personas con síndrome de fragilidad se asocia con mal pronóstico y alta mortalidad. Un estudio ha demostrado que una alta carga de enfermedad aumenta la probabilidad de hospitalización, siendo más probable que los hombres sean

admitidos que las mujeres (Feijóo et al., 2020). En mujeres, la edad fue un factor protector para la COVID, pues se demostró que las mujeres jóvenes tenían mayor incidencia de contagio, mientras que los hombres no, pero estaban en riesgo. La incidencia bruta de esta patología aumenta con la edad, al igual que ciertas patologías provocadas por la inmunosenescencia. (Feijoo et al., 2020).

## **I.7.2 Neurodegeneración y Fragilidad**

Existe evidencia de la asociación entre el síndrome de fragilidad y deterioro cognitivo basada en los mecanismos fisiopatológicos compartidos, como las enfermedades vasculares y la inflamación (Panza et al., 2017). La evidencia sugiere que la salud mental y la cognición pueden verse afectadas incluso desde las primeras etapas de fragilidad (Han et al., 2014). Esta combinación conduce a mayores niveles de discapacidad y una menor calidad de vida en comparación con la fragilidad o el deterioro cognitivo por sí solos (Feng et al., 2017).

En 2013, el Grupo de Consenso Internacional organizado por la Academia Internacional sobre Nutrición y Envejecimiento (I.A.N.A) y la Asociación Internacional de Gerontología y Geriatria (I.A.G.G) definió las características de la fragilidad cognitiva: 1) existencia de fragilidad física y deterioro cognitivo y 2) exclusión de un diagnóstico clínico de EA o cualquier otra forma de demencia (Kelaiditi et al., 2013). Varios cambios patológicos asociados con el deterioro cognitivo y con la demencia, como la resistencia a la insulina (RI), la inflamación crónica y la disfunción mitocondrial, están asociados con la obesidad (De Felice y Ferreira, 2014; Seo et al., 2021). Además, el deterioro cognitivo se relaciona con la fragilidad, compartiendo bases fisiopatológicas y algunos desenlaces como discapacidad, alteraciones de la marcha, caídas, fracturas, hospitalización e incluso mortalidad (Robertson, et al., 2014; Casas-Herrero et al., 2019). La fragilidad cognitiva se puede considerar como el paso inicial de la neurodegeneración, que ha unido la fragilidad física y la cognitiva.

Dos marcadores medidos en suero/plasma se asociaron con el deterioro cognitivo y la fragilidad: la sirtuina 1 y la CYTC. Se ha informado que la sirtuina 1 está involucrada en la vía que controla la expresión de los péptidos beta-amiloides, que forman las placas asociadas con la EA, a través de ADAM10 (Donmez et al., 2014). Los niveles de sirtuina 1 disminuyen con la edad, pero esta disminución es más pronunciada en personas con deterioro cognitivo y síndrome de fragilidad en comparación con personas sanas de la misma edad (Kumar et al.,

2014). Por otro lado, la disminución de la CYTC sérica se asocia con atrofia cortical y subcortical, lo que contribuye a un mayor riesgo de deterioro cognitivo (Liu et al., 2014) y, en consecuencia, a caídas, marcha inestable y lenta, falta de equilibrio y tiempos de reacción lentos (Casas-Herrero et al., 2019; Robertson et al., 2014). Estas son las principales manifestaciones motoras de la fragilidad cognitiva (Montero-Odasso et al., 2016). Por tanto, las personas que sufren fragilidad cognitiva con un proceso inflamatorio serán más susceptibles a enfermedades neurodegenerativas, como la EA, ya que las citocinas proinflamatorias podrían ser las responsables del estado inflamatorio en el cerebro (Petrus y Lee, 2014). Las infecciones pueden inducir péptidos amiloide- $\beta$ , que tienen verdadera actividad antimicrobiana y contribuyen al mantenimiento del estado inflamatorio a través del sistema inmunitario innato (Fulop et al., 2016). Por lo tanto, las proteínas amiloides bacterianas podrían influir en el depósito de  $\beta$ -amiloide en el cerebro a través de dos vías diferentes: la inducción de la neuroinflamación o el mimetismo molecular, es decir, el plegamiento incorrecto de las proteínas neuronales a través de la siembra cruzada (Friedland, 2015). Como plantearon algunos autores, el microbiota intestinal podría desempeñar un papel en la regulación del depósito de amiloide en el cerebro a través de la modulación de la inflamación (Cattaneo et al., 2016). La nutrición alterada, el sistema inmunológico y los cambios estructurales asociados con el envejecimiento pueden promover la disbiosis intestinal proinflamatoria. Muchos taxones microbianos están sobrepresentados en las personas mayores frágiles, incluidos aquellos que producen mediadores metabólicos como los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que modulan la inflamación y mejoran la sensibilidad a la insulina y las respuestas anabólicas (Di Sabatino, et al., 2018). Además, los anaerobios facultativos, que están asociados con un aumento de citocinas inflamatorias, se vuelven dominantes en los intestinos de las personas mayores (Biagi et al., 2010). Varios autores destacaron el hecho de que muchas taxonomías de bacterias intestinales pueden producir proteínas amiloides. Estas proteínas podrían ser fagocitadas por las células del sistema inmunitario entérico y luego entregadas al sistema nervioso central (SNC) o ingresar directamente a la circulación sistémica como consecuencia de un “intestino permeable”, es decir, una alteración de la permeabilidad de la mucosa inducida por la disbiosis del microbiota (Friedland, 2015). Esto ha sido corroborado por un estudio que detectó lipopolisacáridos (LPS) derivados de bacterias Gram-negativas en el hipocampo y la corteza temporal de pacientes con EA en un análisis post-mortem (Zhao et al., 2017). La importancia



del microbiota en la modulación de la inflamación sistémica y la neuroinflamación también ha sido subrayada por la asociación entre el crecimiento excesivo del microbiota oral en la periodontitis y la EA (Harding et al., 2017; Shoemark et al., 2015). Otros autores también han hecho hincapié en el papel potencial del nervio vago en la transducción de señales del microbiota intestinal al cerebro (Leung y Thuret, 2015). En general, el aumento de la inflamación local y sistémica que ocurre durante la fragilidad puede contribuir a procesos neurodegenerativos, como lo ejemplifica la EA.

### **I.7.3 Enfermedades crónicas y fragilidad**

El envejecimiento es el mayor factor de riesgo para la mayoría de las enfermedades crónicas que generan tanto morbilidad como mortalidad. Nuevos hallazgos sugieren que las enfermedades y/o sus tratamientos pueden acelerar las patologías del envejecimiento (Kennedy et al., 2014). El vínculo entre el envejecimiento y las enfermedades crónicas es multifactorial, incluidos los cambios en el microbioma intestinal, la desregulación metabólica y el sistema inmunitario.

En términos de metabolismo, la DM, al igual que otras enfermedades crónicas o comorbilidades, puede exacerbar la desregulación metabólica asociada con el envejecimiento. Una de las preguntas más importantes a abordar es cómo la sobrenutrición y la obesidad pueden afectar el metaboloma del envejecimiento. Estos problemas también son relevantes para la inflamación, ya que el tejido adiposo es una fuente importante de citoquinas inflamatorias (Kennedy et al., 2014). Un aumento del estado inflamatorio puede provocar fragilidad y desregulación en los sistemas del cuerpo. Como se mencionó anteriormente, la inflamación puede ser una causa subyacente común de envejecimiento adverso y enfermedad crónica (Salvioli et al., 2013).

Las enfermedades crónicas confieren un alto costo de atención médica, y algunas enfermedades están asociadas con una mayor hospitalización o costos generales de atención médica que otras. La asociación entre fragilidad y enfermedades crónicas es, por tanto, uno de los factores que contribuyen a los costes sanitarios asociados al síndrome de fragilidad.

#### **I.7.4 Enfermedades Cardiovasculares (ECVA)**

La HAS, DM, obesidad (especialmente la obesidad abdominal) y el estilo de vida sedentario parecen ser factores compartidos de fragilidad y enfermedad cardiovascular (ECVA). La inflamación de bajo grado es un factor importante en el desarrollo de ECVA. Veronese et al. (2017) demostraron que la pre-fragilidad se asoció con un 23% más de riesgo de ECVA, mientras que la fragilidad se asoció con un 70% más de riesgo de ECVA (Veronese et al., 2017). El síndrome de fragilidad se puede asociar con un mayor riesgo de ECVA debido a la inflamación, así como a la estructura y función muscular comprometida.

#### **I.7.5 Arteriosclerosis**

Enfermedad inflamatoria que puede derivar en enfermedad arterial coronaria, arterial periférica o ECVA (Fulop et al., 2018). Se ha demostrado que la fragilidad aumenta el riesgo de aterosclerosis (Korada et al., 2017). En esta enfermedad, las células endoteliales se dañan y se acumulan células espumosas. Las células espumosas aumentan como resultado de la deposición de partículas de lipoproteínas de baja densidad (LDL) que contienen colesterol en el endotelio. Este proceso induce una reacción inflamatoria, incluyendo la interacción entre las células innatas, las células inmunitarias adaptativas y las células endoteliales (Libby et al., 2011). Las células espumosas se forman cuando los macrófagos engullen partículas que contienen lípidos. En la aterosclerosis, existe el endurecimiento de la pared arterial, así como un estrechamiento de la luz que puede dificultar la perfusión de los órganos. Las células T senescentes contribuyen a la aterosclerosis, al secretar macrófagos que estimulan IFN- $\gamma$  (interferón-gamma) (Thomas et al., 2020). Los estudios muestran que los niveles altos de CRP e IL6 están asociados con un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares en las personas mayores (Ferruci y Fabbri, 2018).

#### **I.7.6 Hipertensión ArterialSistémica (HAS)**

Es uno de los padecimientos más importantes del sistema cardiovascular. Se asocia con eventos cardiovasculares y cerebrovasculares, trastornos cognitivos, enfermedades renales y la muerte (Liu et al., 2020). La hipertensión arterial (HAT) es la forma más prevalente de la hipertensión arterial sistémica (HAS) primaria en la población envejecida y se asocia en parte con una presión del pulso y una velocidad de la onda de pulso más alta (Staessen et al., 2000).

Los cambios en la cognición y el estado de ánimo están asociados con un mal control de la presión arterial (Piotrowicz et al., 2016). La HAS es más común entre las personas frágiles en comparación con las personas pre frágiles y no frágiles (Liu et al., 2014). La HAS y la fragilidad pueden tener una fisiopatología común a través de la arteriosclerosis, la inflamación o el estrés oxidativo sostenido (Liu et al., 2020).

### **I.7.7 Sarcopenia**

La sarcopenia es la atrofia muscular asociada con el envejecimiento y con la hipoplasia (la disminución del número de fibras) así como con la atrofia del músculo esquelético (la reducción del tamaño de las fibras) (Narici, et al., 2003). La disminución concomitante de la fuerza muscular se ve exacerbada por la disminución de las fibras musculares tipo II y las mitocondrias, y el aumento del depósito de grasa en el parénquima (Wilson et al., 2017). La sarcopenia puede provocar cambios en la marcha y el rendimiento físico en los adultos mayores. Por lo tanto, se asocia con pérdida de movilidad, independencia reducida y aumento de la mortalidad.

La sarcopenia puede ser el resultado de cambios hormonales, como el aumento de cortisol/(DHEA), la desnutrición, la reducción de la actividad física, el deterioro inmunitario asociado con la edad y la inflamación (Wilson et al., 2017). Una cantidad significativa de energía metabólica se gasta en la producción de citocinas inflamatorias, lo que reduce la cantidad de energía disponible para otras funciones esenciales, como el mantenimiento de la masa muscular (Fulop et al., 2016). Se encontró que los marcadores inflamatorios IL-6, TNF-alfa y CRP estaban elevados en adultos mayores con sarcopenia (O’Bryant et al., 2010). En términos de energía, la disfunción mitocondrial del músculo esquelético también prevalece en la edad avanzada, disminuyendo en volumen y número, así como con una biogénesis reducida (Petersen et al., 2012).

Existe un “eje intestino-músculo” que involucra mediadores microbianos que influyen en el anabolismo del músculo esquelético y el ejercicio físico, favoreciendo la biodiversidad de la microbiota intestinal (Grosicki et al., 2018). Las dietas ricas en grasas pueden promover la disbiosis de la microbiota intestinal y, por lo tanto, favorecer la inflamación sistémica. Fabbri et al. (2017) demostraron que una mayor masa grasa total se acompaña de una pérdida simultánea de masa corporal magra, lo que predice una tasa más rápida de disminución de la

calidad muscular en los adultos mayores (Fabbri et al., 2017). Estudios recientes también han demostrado que la microbiota intestinal está involucrada en la fisiopatología del síndrome de fragilidad al promover la inflamación crónica y la resistencia anabólica. Por tanto, la microbiota intestinal podría ser una mediadora entre la fragilidad y la sarcopenia.

Uno de los mayores desafíos en la actualidad es determinar qué viene primero, la sarcopenia y luego la fragilidad o la fragilidad y luego la sarcopenia. Sin embargo, existen limitaciones en la información disponible. Se debe considerar que estas patologías representan una interrupción permanente de la homeostasis de los organismos con una probabilidad limitada de cambio (Cesari et al., 2014). La sarcopenia y la fragilidad son condiciones distintas pero relacionadas. La sarcopenia no es un biomarcador del síndrome de fragilidad; sin embargo, la ausencia de sarcopenia puede ser importante para excluir un diagnóstico de fragilidad. También habrá que considerar que la prevalencia de sarcopenia o fragilidad también varía en función de las técnicas utilizadas para evaluar los diferentes parámetros de estas enfermedades (Davies et al., 2017).

Un estudio transversal japonés mostró que los participantes con sarcopenia y fragilidad (medida por los criterios del fenotipo de fragilidad) tenían una mala calidad de vida, una alta incidencia de caídas y niveles bajos de vitamina D, proteínas y energía. El estudio también muestra que las personas frágiles tienen un mayor porcentaje de debilidad en las extremidades inferiores, fuerza muscular y requieren más cuidados a largo plazo, debido a la intensidad de las caídas (Mori y Tokuda, 2019).

### **I.7.8 Patologías Esqueléticas**

La fragilidad física está relacionada con patologías esqueléticas y deterioro cognitivo que comparten bases fisiopatológicas y resultados comunes, como alteraciones de la marcha, caídas, fracturas, discapacidad e incluso mortalidad (Casas-Herrero et al., 2019; Robertson et al., 2014). Las fracturas óseas están relacionadas con complicaciones significativas, como mayor miedo a las caídas, pérdida de autonomía, riesgo de discapacidad, disminución de la calidad de vida y mortalidad anticipada en personas mayores (Amouzougan et al., 2017; Bailly et al., 2014; Bonafede et al., 2016). La baja masa ósea relacionada con la edad debilita el esqueleto y aumenta la probabilidad de fracturas óseas (Amouzougan et al., 2017; Bonafede et al., 2016). La incidencia de fractura de cadera es un problema de salud mundial

en aumento que afecta principalmente a poblaciones de edad avanzada (Dhanwal et al., 2011), así como las fracturas vertebrales, aunque en menor grado (Walters et al., 2017).

La fractura de cadera tiene graves consecuencias clínicas por la morbilidad asociada, la susceptibilidad del paciente a la depresión severa y la pérdida de autonomía. Estos factores contribuyen a la reducción de la salud, la recuperación deficiente o parcial y la fragilidad (Duggal et al., 2014). La incidencia de infecciones bacterianas en pacientes con fractura de cadera antes de la cirugía es del 43-48%, mientras que el 20-30% de los pacientes mueren a causa de la fractura de cadera (Edwards et al., 2008). La fractura de cadera desencadena un estado de estrés agudo que comparte similitudes con quemaduras graves, sepsis y ECVA, lo que da como resultado una inmunosupresión progresiva (Xiu et al., 2013) y un aumento del riesgo de infección.

## **I.7.9 Patologías Metabólicas**

### **I.7.9.1 Diabetes Mellitus (DM)**

Estudios recientes han demostrado que la DM, la RI y la lipotoxicidad aumentan la infiltración de neutrófilos, la proliferación de macrófagos y la secreción de mediadores inflamatorios, contribuyendo a un estado proinflamatorio en el organismo (Ferruci y Fabbri, 2018). La DM también está relacionada con la fragilidad y la pre-fragilidad, ya que se caracteriza por la disminución de las reservas en múltiples sistemas fisiológicos. En 2019, la Sociedad Europea de Cardiología (ESC) identificó a la DM como una de las principales causas de ECVA (Jiménez Navarro et al., 2020). Además, la DM juega un papel importante en el desarrollo de la aterosclerosis debido a la producción excesiva de angiotensina II que puede causar daño mitocondrial al aumentar la inflamación crónica (Eguchi et al., 2018). La prevalencia de esta patología varía alrededor del mundo (Soysal et al., 2016), ya que puede presentarse como parte del síndrome metabólico (SM) o como una sola enfermedad. Existe la posibilidad de que los episodios de hipoglucemia asociados con la DM desempeñen un papel en el aumento del riesgo de fragilidad (Niccoli y Partridge, 2012).

El síndrome metabólico (SM) se refiere a un conjunto de trastornos relacionados con la obesidad abdominal, la dislipidemia, HAS y la RI (Andersen et al., 2016) El SM se caracteriza por niveles más altos de leptina que se asocian con la prevalencia del síndrome de fragilidad (Hubbard et al., 2010). En las funciones cognitivas, este SM se relaciona con

un deterioro de las FE (Lin et al., 2015) y en si se asocia con una alteración metabólica sistémica, que involucra al sistema endocrino e inmunológico. El sistema inmunológico juega un papel en su fisiopatología y, al mismo tiempo, se ve afectado por esta patología. Así, en este síndrome se observa un estado proinflamatorio y una inflamación crónica de bajo grado.

### **I.7.9.2 Obesidad**

Indicada por un IMC más alto de lo normal y cambios en la composición muscular/grasa corporal, se asocia con numerosas condiciones, destacando la RI, que aumenta la inflamación a través de la obesidad central, los adipocitos la liberación quimioquinas C-C 2 (CCL2) por parte de los adipocitos y la acumulación tisular de macrófagos M1 (Ferruci y Fabbri, 2018), monocitos y linfocitos T (Vandanmagsar et al., 2011). A su vez, la acumulación de linfocitos B y macrófagos provoca un aumento de la masa corporal (Weisberg et al., 2003). Muchos estudios han indicado que un aumento en el IMC, la circunferencia de la cintura, el tejido adiposo intramuscular y pericárdico se asocia con puntajes más altos de fragilidad y probablemente con sarcopenia (Hubbard et al., 2010; Crow et al., 2019; Karczewski et al., 2018).

### **I.7.9.3 Dislipidemia**

Aunque numerosos estudios han examinado esta patología, los resultados son inconsistentes. Un conjunto de resultados mostró que la concentración de HDL era mayor en personas en estado no frágil (61, 7 mg/dl) frente a pre frágil (58.1 mg/dl  $p = 0.04$ ). Sin embargo, otro estudio mostró que la pre-fragilidad y la fragilidad estaban asociadas con un mayor riesgo de concentración baja de lipoproteína de baja densidad (HDL) y alta de lipoprotetína de baja densidad (LDL) (Sergi et al., 2015). Estos resultados son similares a los de Reykjavik (2015), que mostró que los niveles de HDL y LDL eran más bajos y los niveles de triglicéridos eran más altos en las personas frágiles frente a las no frágiles, alcanzando niveles aún más altos en los sujetos con SM (Veronese et al., 2017). El colesterol puede inducir el inflamasoma NLRP3 que estimula la producción de IL-1 $\beta$ , produciendo complicaciones ateroscleróticas y problemas de perfusión (Ordovas-Montanes y Ordovas, 2012).

## I.8 Biomarcadores de Fragilidad en Fluidos Salivales

### I.8.1 Proteómica

La etiología del síndrome de fragilidad se ha asociado con cambios en varias situaciones fisiológicas, incluida la inflamación (Walston et al., 2002). Muchas de las alteraciones observadas en el síndrome de fragilidad ocurren a nivel de proteínas (como defectos en la síntesis y el metabolismo de proteínas), anomalías de la función mitocondrial, desequilibrio redox y desregulación de la apoptosis de los miocitos (Marzetti et al., 2012; Joseph et al., 2012). Así, el descubrimiento de biomarcadores proteicos podría ser un paso adelante para el diagnóstico y pronóstico de esta patología multifactorial.

Actualmente, no existe un único biomarcador que logre suficiente precisión predictiva, diagnóstica y pronóstica para ser introducido de forma rutinaria en la práctica clínica, ya sea sólo o en combinación con datos clínicos y demográficos (Lippi et al., 2015)

Entender los mecanismos moleculares y la complejidad del síndrome de fragilidad es uno de los retos actuales de la comunidad científica. Aunque el conocimiento en esta área ha aumentado notablemente en los últimos años gracias al desarrollo de nuevos enfoques en genómica y la proteómica (y aplicaciones de la proteómica en la investigación biomédica traslacional). Actualmente, los estudios de proteómica centrados en biomarcadores de fragilidad son limitados, ya que la mayoría de ellos han utilizado una pequeña cohorte para la evolución y tienen como objetivo confirmar el papel de los mecanismos inflamatorios en la fragilidad (Pan et al., 2020). Tal es el caso de la iniciativa FRAILOMIC ([www.frailomic.org](http://www.frailomic.org)), que se basa en enfoques proteómicos que tienen como objetivo identificar un conjunto de biomarcadores, que serán la base para desarrollar “kits listos para usar”. Esta estrategia podría utilizarse en la práctica clínica para mejorar la capacidad de predicción, el diagnóstico precoz y la monitorización de la fragilidad (Erusalimsky et al., 2016).

La evaluación de un gran panel de biomoléculas (proteínas bioactivas), incluidas las citoquinas proinflamatorias y metaloproteasas, denominadas sistema de integración informado y sensible (SASP), e involucradas en la patogénesis y la progresión de la fragilidad, es una estrategia de un modelo multivariante/multidimensional (Calvani et al., 2015). Este enfoque se basa en gran medida en el uso de técnicas de proteómica, que permiten

la identificación de proteínas previamente no seleccionadas, así como la detección de firmas proteómicas que reflejan períodos de tiempo específicos. Como resultado, caracterizan a las personas con mayor riesgo de desarrollar fragilidad o pre-fragilidad, así como pacientes frágiles con mayor riesgo de progresar hacia un peor deterioro cognitivo y funcional (Frantzi et al., 2014).

Por lo tanto, para comprender la etiología y las consecuencias del síndrome de fragilidad, se deben diseñar nuevos métodos que permitan la estratificación de los pacientes, la prevención, el diagnóstico precoz y el seguimiento del tratamiento de la fragilidad en la población anciana. Actualmente, las pruebas invasivas son el estándar de oro para identificar biomarcadores de procesos inflamatorios mediante la obtención de fluidos como plasma y/o suero. Estas pruebas son incómodas para las personas y requieren personal altamente capacitado. Por el contrario, se están estudiando otros fluidos proximales más accesibles, como la saliva, para identificar biomarcadores relevantes. Este enfoque tiene varias ventajas sobre otros convencionales, como la reducción de los costos de salud como resultado de la recolección de muestras no invasiva y sin estrés que no requiere profesionales y entornos de atención médica especializados. Además, la recogida de muestras es más segura y rápida gracias a la posibilidad de autorecogida. Por lo tanto, la recolección repetida de muestras es más sencilla (Slade et al., 2003). Las comparaciones entre los proteomas del plasma y la saliva han indicado que el 20-30% de las proteínas que se encuentran en la saliva están presentes en la sangre (Yan et al., 2009). Los científicos han reconocido durante mucho tiempo que la saliva sirve como un espejo de la salud, ya que contiene el repertorio completo de proteínas, hormonas, anticuerpos y otros analitos que se miden con frecuencia en los análisis de sangre (Slowey, 2015). Además, el análisis de la saliva se lleva a cabo para una amplia gama de afecciones, incluidos los cánceres orales y las ECVA (Gohel et al., 2018; Khurshid et al., 2018).

A pesar de estas ventajas, también es necesario desarrollar algunas funciones de biobanco para resaltar la necesidad de muestras salivales clínicas de alta calidad, recolectadas en condiciones estandarizadas, para proporcionar una excelente línea de validación de biomarcadores; el objetivo de encontrar nuevos proyectos es crear nuevas investigaciones para descubrir nuevos diagnósticos y tratamientos, en este caso para el síndrome de fragilidad. Este enfoque deberá considerar que la relación entre la saliva y el envejecimiento no es estática y también que la cavidad oral alberga una variedad de microbios que influyen



en la salud local y sistémica. Adicionalmente, es necesario tener en cuenta que la fuerza y naturaleza de las asociaciones entre la saliva y los marcadores inmunes en sangre pueden depender de la salud oral y/o física de la población en estudio. La enfermedad aguda o la inflamación del compartimento oral o sistémico pueden afectar el grado de correlación entre los marcadores inmunes salivales y séricos. Además de la salud física bucal, la edad, el tabaquismo, la contaminación sanguínea, el tiempo de recolección de las pruebas y la calidad del sueño pueden tener efectos agudos y crónicos en el entorno inmunológico bucal, todos estos factores deberán ser controlados (Riss et al., 2014). Establecer la confiabilidad de la medición es un componente clave para validar nuevas medidas biológicas (de Almeida et al., 2008). Merece la pena mencionar que algunos hallazgos sobre los marcadores inflamatorios en la saliva son inconsistentes y algunos estudios emplean diferentes enfoques de un sólo complejo que impide la comparación de resultados (Slavish et al., 2015). En cuanto a la recolección de muestras, la mayoría de los investigadores recolectaron saliva utilizando el método de baba pasiva (salivette). Varios estudios han informado correlaciones deficientes entre la saliva y la sangre al buscar marcadores inflamatorios (Minetto et al., 2007; Sjogren, 2006; Riis et al., 2014), pero otros muestran una correlación significativa para los mismos biomarcadores (Nam, et al. 2019), como es el caso de la IL-1 $\beta$ , CRP e IL-6 (Nam et al., 2019). Una de las razones de las inconsistencias entre los estudios podría ser el momento en que se realiza el muestreo (Slavish et al., 2015). Además, aunque hay cierta infiltración de proteínas de la sangre a la saliva, como se señaló anteriormente, la mayoría de las proteínas no pueden cruzar fácilmente las múltiples barreras entre estos dos compartimentos. Por lo tanto, la pregunta es si estos marcadores inflamatorios reflejan una respuesta local o sistémica. Por ejemplo, la IL-6 puede provenir de los macrófagos tisulares locales y de las células acinares de las glándulas salivales y, en consecuencia, la IL-6 salival puede reflejar una respuesta inflamatoria local más que una respuesta metabólica sistémica. En términos de biomarcadores inflamatorios salivales para el síndrome de fragilidad, la evidencia sugiere que el suero de personas mayores frágiles tiene niveles elevados del subconjunto de células supresoras derivadas de mieloides, que pueden suprimir las respuestas de las células T, así como las citocinas proinflamatorias requeridas para la diferenciación y el resultado de la disfunción inmunológica. Por ello, varios estudios han encontrado niveles más altos de marcadores inflamatorios en saliva que en sangre (Miller et al., 2014).

Recientemente un estudio sobre la IL-6 usando saliva demostró que tiene una relación significativa con los niveles de fragilidad y actividad física. En este estudio se detectaron diferencias significativas entre individuos robustos y frágiles en las concentraciones de saliva (Gómez-Rubio et al., 2022).

Actualmente, la fase de descubrimiento de biomarcadores en los fluidos salivales humanos se basa en enfoques no dirigidos que podrían resultar en la identificación de una gran cantidad de biomarcadores potenciales. Los enfoques no dirigidos también se denominan imparciales, ya que el descubrimiento de nuevos biomarcadores putativos se realiza sin suposiciones previas sobre las cuáles podrían ser potencialmente prometedores. Sin embargo, los métodos para llevar a cabo un análisis no dirigido tienden a ser relativamente intensivos y no pueden manejar la inmensa complejidad del proteoma del fluido salival. Desde un punto de vista práctico, esto limita el análisis a las proteínas más abundantes, que representan sólo una fracción estrecha o pequeña del proteoma. En consecuencia, un análisis no dirigido puede ser más relevante cuando se utilizan fluidos salivales humanos en lugar de sangre, como fluidos cercanos a los tejidos afectados u homogeneizados de tejidos. Este enfoque se puede utilizar para identificar un conjunto inicial de objetivos de proteínas que se pueden evaluar más a fondo utilizando métodos más sensibles.

## **I.8.2 Tecnologías moleculares de alto rendimiento para el descubrimiento de biomarcadores en la saliva humana**

Las pruebas moleculares rápidas y simples son importantes para la aplicación clínica de biomarcadores inflamatorios salivales. Los métodos utilizados van desde los inmunoensayos más convencionales hasta las técnicas más avanzadas. El progreso en varias técnicas de alto rendimiento en el análisis de muestras ha permitido evaluar a muchas personas para muchos parámetros.

Los inmunoensayos son pruebas que se utilizan para cuantificar niveles de biomarcadores específicos dentro de una muestra, utilizando concentraciones de biomarcadores para generar una curva estándar. Luego, sus valores se interpolan en la curva estándar para definir los niveles de biomarcadores (O'Brien et al., 2006; Haran et al., 2012). Los lectores de microplacas estándar utilizados para inmunoensayos, como el ensayo de

inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), incluyen software que admite la detección de absorbencia para bioensayos y cálculos de las concentraciones correspondientes en función de la interpolación de la densidad óptica en la curva estándar (Xiao y Wong, 2012).

Se han utilizado diferentes enfoques proteómicos para la caracterización del proteoma en fluidos proximales. La espectrometría de masas (MS) se ha convertido en una de las tecnologías más potentes de los últimos años en la caracterización proteómica. La detección rápida y de alto rendimiento de proteínas en volúmenes de muestra diminutos sin preprocesamiento puede utilizarse en el diagnóstico de muchas enfermedades (Schwartz et al., 1995). El uso de espectrometría de masas requiere cantidades más pequeñas de material y tiene un mayor rendimiento que los métodos de secuenciación convencionales (Amado et al., 2005). El análisis de biomarcadores de proteínas empleando electroforesis en gel de diferencia bidimensional (2D-DIGE) junto con MS (identificación de 300 proteínas aproximadamente) y cromatografía líquida-MS (LC-MS) puede identificar más de 1050 proteínas en una muestra (Hu et al., 2005; Xiao y Wong, 2012). Se ha demostrado que solo se pueden analizar 1929 proteínas en la saliva humana, frente a las 3020 encontradas en el proteoma plasmático, de las cuales 597 se pueden encontrar en común entre dos tipos de muestra (Ohshiro et al., 2007)

Otra técnica proteómica para el estudio de los fluidos salivales es el análisis de espectrometría de masas (MS/MS) de desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-TOF) (Filaire et al, 2004). MALDI-TOF, SELDI-TOF y SDS-PAGE (SDS, PAGE y IEF). Estas técnicas son las más utilizadas. El primero y el segundo han sido empleados para estudiar la composición proteica de saliva total y saliva de glándulas específicas, con o sin estimulación, lo que permitió la separación de más de 30 bandas (Schwartz, 1995; Schipper et al., 2007). Una debilidad del Método de fraccionamiento de péptidos (IEF) es que utiliza anfolitos portadores, los cuales tienen la necesidad de desalar previamente las muestras, lo que lleva mucho tiempo y podría provocar la pérdida de proteínas.

Una ventaja de detección de SELDI-TOF-MS sobre MALDI-TOF-MS es su capacidad para realizar un prefraccionamiento miniaturizado en chip de muestras de saliva. La optimización de los sistemas tampón puede aumentar potencialmente la resolución y los resultados ayudan en el diseño de esquemas de purificación para aislar proteínas salivales específicas con métodos cromatográficos clásicos (Schipper et al., 2007). Los geles de

proteínas salivales no son diferentes de los protocolos utilizados para teñir otros tipos de muestras, incluido el azul de Coomassie (límites de detección más altos), la tinción con plata y los colorantes fluorescentes (alto rango dinámico). Los problemas asociados con 2DE incluyen una recuperación deficiente de proteínas hidrofóbicas y un poder de resolución limitado para proteínas con masa molecular relativa baja/alta (Ms) o pI básicos (Peng et al, 2003). Una desventaja del uso de geles de poliacrilamida es su incapacidad para resolver y detectar el proteoma de bajo peso molecular (<10 kDa).

Posteriormente, el Monitoreo de Reacción Múltiple (MRM o SRM) ha surgido como el método de elección para realizar la validación con una gran cantidad de biomarcadores candidatos para la validación/verificación en saliva y otros fluidos. SRM/MRM es una técnica de espectrometría de masas en tándem (MS/MS) que se realiza en espectrómetros de masas de triple cuadrupolo. Esta técnica implica la selección de un ion precursor y un péptido que actúa como sustituto de la proteína de interés, que es seleccionada por el primer cuadrupolo. El ión precursor (péptido intacto protonado) se fragmenta luego en el segundo cuadrupolo, y uno de los fragmentos es seleccionado por el tercer cuadrupolo, llegando al detector. Este par de iones precursor/producto se denomina transición y la cuantificación de la proteína se basa en la señal que llega al detector. Esta fragmentación ocurre en un experimento LC/MRM-MS en una escala de tiempo de milisegundos. Se pueden seleccionar diferentes transiciones en función del tiempo de retención. Este tipo de análisis permite la cuantificación de cientos a miles de péptidos/proteínas (Cheng et al., 2020).

Finalmente, puede ser importante resaltar que multiplex-MRM se puede emplear como plataforma de descubrimiento de biomarcadores debido a su viabilidad en la identificación cuantitativa de hasta varios cientos de proteínas en un solo análisis LC/MRM-MS; por lo tanto, esta plataforma podría compararse con microarrays de proteínas. Se han realizado varios estudios de biomarcadores utilizando este enfoque.

En general, el desempeño de SRM/MRM fue es menos tan exitoso como ELISA en varias otras patologías. Se espera lograr un rendimiento óptimo en fragilidad, como se describe en SASP-Atlas (Proteomics atlas of senescence-associated-secretome for aging biomarker development) desarrollado recientemente por Birgit Schilling y colaboradores (Basisty et al., 2019). Esta es la primera base de datos que contiene el contenido de exomas y secretomas solubles, que se puede utilizar para identificar componentes SASP o candidatos

a biomarcadores para la carga de senescencia e identificar componentes SASP, envejecimiento y enfermedades relacionadas (Nelson et al., 2012).

Un aspecto a tener en cuenta es que existe una diferencia entre los biomarcadores que fallan durante el proceso de verificación y aquellos que ni siquiera pueden evaluarse, en su mayoría debido a la falta de anticuerpos adecuados o reactivos de afinidad. De hecho, en ambas situaciones, los biomarcadores se consideran comúnmente no verificables.

Otro aspecto importante es el costo de un estudio completo desde el descubrimiento hasta la verificación. Anderson et al. (2019) discutió los desafíos y costos de realizar un estudio completo desde el descubrimiento hasta la verificación



# Bibliografía

- 1) Abbatecola, A.M., Ferrucci, L., Grella, R., Bandinelli, S., Bonaf'e, M., Barbieri, M., Corsi, A.M., Laurentani, F., Franceschi, C., Paolisso, G. 2004. Diverse effect of inflammatory markers on insulin resistance and insulin-resistance syndrome in the elderly. *J. Am. Geriatr. Soc.* 52, 399–404. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2004.52112.x>.
- 2) Abadir, P., Ko, F., Marx, R., Powell, L., Kieserman, E., Yang, H., Walston, J. 2017. Co-localization of macrophage inhibitory factor and nix in skeletal muscle of the aged male interleukin 10 null mouse. *J Frailty Aging*, 6, 118. <https://doi.org/10.14283/jfa.2017.18>
- 3) Abrahamson, M., Alvarez-Fernandez, M., Nathanson, C. M. 2003, Cystatins. In: *Biochemical Society Symposium*. 70, pp. 179-199.
- 4) Aizpurua, A. & Koutstall, W. 2015. A matter of focus: Detailed memory in the intentional autobiographical recall of older and younger adults. *Conscious Cogn*, 33. 145-155. <http://doi.org/10.1016/j.concog.2014.12.006>.
- 5) Ahadi, S., Zhou, W., Rose, S.M.S.F., Sailani, M.R., Contrepolis, K., Avina, M., Ashlanda, M., Brunet, A., Snyder, M. 2020. Personal aging markers and ageotypes revealed by deep longitudinal profiling. *Nat. Med.* 26, 83–90. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0719-5>.
- 6) Alescio-Lautier, B., Michel, B. F., Herrera, C., Elahmadi, A., Chambon, C., Touzet, C., Paban, V. 2007. Visual and visuospatial short-term memory in mild cognitive impairment and Alzheimer disease: role of attention. *Neuropsychologia*, 45, 1948-1960. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2006.04.033>.
- 7) Alvarado García, A.M.& Salazar Maya, Á.M. 2014. Análisis del concepto de envejecimiento. *Gerokomos*, 25, 57-62. <https://dx.doi.org/10.4321/S1134-928X2014000200002>.
- 8) Ashford, R.F., Nagelburg, S. & Adkins, R. 1996. Sensitivity of the Jamar dynamometer in detecting submaximal grip effort. *J Hand Surg*, 21, 402-405. [https://doi.org/10.1016/S0363-5023\(96\)80352-2](https://doi.org/10.1016/S0363-5023(96)80352-2)
- 9) Amado, F.M.L., Vitorino, R.M.P., Domingues, P.M.D.N., Lobo, M.J.C., Duarte, J.A.R. 2005. Analysis of the human saliva proteome. *Expert Rev. Proteom.* 2, 521–539. <https://doi.org/10.1586/14789450.2.4.521>.

- 10) Amblas-Novellas, J., Martori, J.C., Molist, N.M., Oller, R., Gómez-Batiste, X., Panicot, J. E. 2017. Índice frágil-VIG: diseño y evaluación de un índice de fragilidad basado en la Valoración Integral Geriátrica [Frail-VIG index: Design and evaluation of a new frailty index based on the Comprehensive Geriatric Assessment]. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* 52, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.regg.2016.09.003>.
- 11) Amouzougan, A., Lafaie, L., Marotte, H., Dénarié, D., Collet, P., Pallot-Prades, B., Thomas, T. 2017. High prevalence of dementia in women with osteoporosis. *Joint Bone Spine.* 84, 611–614. <https://doi.org/10.1016/j.jbspin.2016.08.002>.
- 12) Andersen, C.J., Murphy, K.E., Fernandez, M.L. 2016. Impact of obesity and metabolic syndrome on immunity. *Adv. Nutr.* 7, 66–75. <https://doi.org/10.3945/an.115.010207>.
- 13) Anderson, N.L., Razavi, M., Pope, M.E., Yip, R., Pearson, T.W. 2019. Multiplexed Measurement of Protein Biomarkers in High-frequency Longitudinal Dried Blood Spot (DBS) Samples Characterization of Inflammatory Responses. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/643239>.
- 14) Arielle., Le Couteur, D. G., Creasey, H., Waite, L.M., Seibel, M.J., Sambrook, P. N. 2010. Loss of muscle strength, mass (sarcopenia), and quality (specific force) and its relationship with functional limitation and physical disability: the Concord Health and Ageing in Men Project. *J Am Geriatr Soc*, 58, 2055-2062. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2010.03145.x>.
- 15) Armstrong, N.M., An, Y., Shin, J.J., Williams, O.A., Doshi, J., Erus, G., Daatzikos, C., Ferrucci, L., Beason-Held L.L., Resnick, S. M. 2020. Associations between cognitive and brain volume changes in cognitively normal older adults. *Neuroimage*, 223, 117289. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.117289>.
- 16) Arnold, B., Cassady, S.J., VanLaar, V.S., Berman, S.B. 2011. Integrating multiple aspects of mitochondrial dynamics in neurons: age-related differences and dynamic changes in a chronic rotenone model. *Neurobiol Dis* 41, 189-200. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.09.006>.
- 17) Arpegård, J., Ostergren, J., de Faire, U., Hansson, L.O., Svensson, P. Cystatin C a marker of peripheral atherosclerotic disease? *Atherosclerosis*. 2008.199:397–401. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.11.025>.
- 18) Atsumi, T., Cho, Y.R., Leng, L., McDonald, C., Yu, T., Danton, C., Hong, E.G., Mitchell, R.A., Metz, C., Niwa, H., Takeuchi, J., Onodder, S., Umino, T. Yoshioka, N., Koike, T., KiM, J.K., Bucala, R. 2007. The proinflammatory cytokine macrophage migration inhibitory factor regulates glucose metabolism during systemic inflammation. *J Immunol*, 179, 5399-5406. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.8.5399>.
- 19) Aziz, S., Ahmed, S.S., Ali, A., Khan, F.A., Zulfiqar, G., Iqbal, J., Khan, A.A., Shoaib, M. 2015. Salivary immunosuppressive cytokines IL-10 and IL-13 are significantly elevated in oral squamous cell carcinoma patients. *Cancer Investig.* 33, 318–328. <https://doi.org/10.3109/07357907.2015.1041642>.
- 20) Baddeley, A. D., & Logie, R. H. 1999. Working memory: The multiple-component model. In A. Miyake & P. Shah (Eds.), *Models of working memory: Mechanisms of active maintenance and executive* Cambridge University Press. pp. 28-61. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139174909.005>



- 21) Bailly, S., Haesebaert, J., Decullier, E., Dargent-Molina, P., Annweiler, C., Beauchet, O., Schott, A., Rabilloud, M. 2014. Mortality and profiles of community-dwelling fallers. Results from the EPIDOS cohort. *Maturitas* 79, 334–339. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2014.07.017>.
- 22) Balbin, M., Grubb, A. & Abrahamson, M. 1993. An Ala/Thr variation in the coding region of the human cystatin C gene (CST3) detected as a SstII polymorphism. *Hum Genet*, 92, 206-207. <https://doi.org/10.1007/BF00219694>.
- 23) Bano, D., Agostini, M., Melino, G., & Nicotera, P. 2011. Ageing, neuronal connectivity and brain disorders: an unsolved ripple effect. *Mol Neurobiol* 43, 124-130. <https://doi.org/10.1007/s12035-011-8164-6>.
- 24) Barnes, D.E. & Yaffe, K. 2011 The projected effect of risk factor reduction on Alzheimer's disease prevalence. *Lancet Neurol*, 10, 819-828. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(11\)70072-2](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(11)70072-2).
- 25) Barrett, A. J., Fritz, H., Grubb, A., Isemura, S., Järvinen, M., Katunuma, N., Machleidt, W., Muller-Esterl, W., Sasaki, M., Turk, V. 1986. Nomenclature and classification of the proteins homologous with the cysteine-proteinase inhibitor chicken cystatin. *Biochem J*, 236, 312. <https://doi.org/10.1042/bj2360312>.
- 26) Basisty, N., Kale, A., Jeon, O.H., Kuehnemann, C., Payne, T., Rao, C., Holtz, A., Shah, S., Sharma, V., Ferrucci, L., Campisi, J., Schilling, B. 2019. A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development. *PLoS Biol*. 1–26. <https://doi.org/10.1101/604306>.
- 27) Baylis, D., Bartlett, D.B., Syddall, H.E., Ntani, G., Gale, C.R., Cooper, C., Lord, J.M., Sayer, A.A. 2013. Immune-endocrine biomarkers as predictors of frailty and mortality: a 10-year longitudinal study in community-dwelling older people. *Age*. 35, 963–971. <https://doi.org/10.1007/s11357-012-9396-8>.
- 28) Benigni, F., Atsumi, T, Calandra T, Metz C, Echtenacher B, Peng T & Bucala R. 2000 The proinflammatory mediator macrophage migration inhibitory factor induces glucose catabolism in muscle. *J Clin Invest*, 106. <https://doi.org/10.1172/JCI9900>.
- 29) Bernaola-Sagardui, I. 2018. Validación del índice de Barthel en la población española. *Enferm. clín.(Ed. impr.)*, 210-211. <https://doi.org/doi:10.1016/j.enfcli.2017.12.001>.
- 30) Bernal, J.G.V., Arias, A.A., Montilla, C.A. 2011. FISIOLOGÍA DEL SISTEMA VESTIBULAR. Libro virtual de formación ORL, 14.
- 31) Bernier, G.M. 1980.  $\beta$ 2-microglobulin: Structure, function and significance. *Vox sanguinis*, 38, 323-327. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.1980.tb04500.x>
- 32) Bergman, H., Ferrucci, L., Guralnik, J., Hogan, D.B., Hummel, S., Karunanathan, S., Wolfson, C. 2007. Frailty: an emerging research and clinical paradigm – issues and controversies. *Journal of Gerontology: Medical Sciences*, 62A, 731- 737. <https://doi.org/10.1093/gerona/62.7.731>.
- 33) Bhandage, A.K., Olivera, G.C., Kanatani, S., Thompson, E., Loré, K., Varas-Godoy, M., Barragan, A. 2020. A motogenic GABAergic system of mononuclear phagocytes facilitates dissemination of coccidian parasites. *Elife*, 9, e60528. <https://doi.org/10.7554/eLife.60528>.

- 34) Biagi, E., Nylund, L., Candela, M., Ostan, R., Bucci, L., Pini, E., Nikkila, J., Monti, D., Satoki, R., Franceschi, C., Brigidi, P., de Vos, W. 2010. Through ageing, and beyond: gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS ONE* 5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010667>.
- 35) Bignami, A. & Dahl, D. 1986. Brain-specific hyaluronate-binding protein. A product of white matter astrocytes?. *J Neurocytol*, 15, 671-679. <https://doi.org/10.1007/BF01611865>.
- 36) Blandino-Rosano, M., Perez-Arana, G., Mellado-Gil, J. M., Segundo, C., Aguilar-Diosdado, M. 2008. Anti-proliferative effect of pro-inflammatory cytokines in cultured b cells is associated with extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway inhibition: protective role of glucagon-like peptide-1. *J Molr Endocrinol*, 41, 35. <https://doi.org/10.1677/JME-07-0154>.
- 37) Bohannon, R. W. 2012. Are hand-grip and knee extension strength reflective of a common construct? *Percept Mot Skills*, 114, 514-518. <https://doi.org/10.2466/03.26.PMS.114.2.514-518>.
- 38) Bonafede, M., Shi, N., Barron, R., Li, X., Crittenden, D.B., Chandler, D. 2016. Predicting imminent risk for fracture in patients aged 50 or older with osteoporosis using US claims data. *Arch. Osteoporos.* 11 <https://doi.org/10.1007/s11657-016-0280-5>.
- 39) Brighton, P & Martin, F.C. 2008. Frailty: different tools for different purposes? *Age and Ageing*, 37, 129- 131. <https://doi.org/10.1093/ageing/afn011>.
- 40) Buchman, A.S., Boyle, P.A., Yu, L., Shah, R.C., Wilson, R.S. & Bennett, D.A. 2012. Total daily physical activity and the risk of AD and cognitive decline in older adults. *Neurology*, 78, 1323-1329. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3182535d35>.
- 41) Buzzi A, Chikhladze M, Falcicchia C, et al. Loss of cortical GABA terminals in Unverricht-Lundborg disease. *Neurobiol Dis.* 47, 216-24 <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.04.005>.
- 42) Cabrero-García, J., Munoz-Mendoza, C.L., Cabanero-Martínez, M.J., González-Llopis, L., Ramos-Pichardo, J.D. & Reig-Ferrer, A. 2012. Valores de referencia de la Short Physical Performance Battery para pacientes de 70 y más años en atención primaria de salud. *Atención Primaria*, 44, 540-548. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2012.02.007>.
- 43) Cai, L., Tu, M., Yin, X., Zhang, S., Zhuang, W., Xia, Y., Zhang, Y., Zhang, L, Yu, L., Chi, L., Huang, Y. 2022. Combination of serum CST4 and DR-70 contributes to early diagnosis of colorectal cancer. *Clin Chim Acta*, 531, 318-324. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.04.1000>.
- 44) Calvani, R., Marini, F., Cesari, M., Tosato, M., Anker, S.D., von Haehling, S., Miller, R.R., Bernabei, R., Landi, F., Marzetti, E., SPRINTT Consortium. 2015. Biomarkers for physical frailty and sarcopenia: state of the science and future developments. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 6, 278–286. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12051>.
- 45) Cardoso, A.L., Fernandes, A., Aguilar-Pimentel, J.A., de Angelis, M.H., Guedes, J.R., Brito, M.A., Ortolano, S., Pani, G., Athanasopoulou, S., Gonos, E.S., Schosserer, M., Grillari, J., Peterson, P., Tuna, B.G., Dogan, S., Meyer, A., Os, R., Trendelenburg, A. U. 2018. Towards frailty biomarkers: candidates from genes and pathways regulated in aging and age-related diseases. *Ageing Res. Rev.* 47, 214–277. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.07.004>.

- 46) Rubio Castañeda, F.J., Tomás Aznar, C. & Muro Baquero, C. 2017. Medición de la actividad física en personas mayores de 65 años mediante el IPAQ-E: validez de contenido, fiabilidad y factores asociados (No. ART-2017-98690).
- 47) Casas-Herrero, A., Anton-Rodrigo, I., Zambom-Ferraresi, F., S´aez De Asteasu, M.L., Martínez-Velilla, N., Elexpuru-Estomba, J.M., Izquierdo, M. 2019. Effect of a multicomponent exercise programme (VIVIFRAIL) on functional capacity in frail community elders with cognitive decline: study protocol for a randomized multicentre control trial. *Trials* 201–212. <https://doi.org/10.1186/s13063-019-3426-0>.
- 48) Cattell, R. B. 1963. Theory of fluid and crystallized intelligence: A critical experiment. *J Educ Psychol* 54, 1–22. <https://doi.org/10.1037/h0046743>.
- 49) Cattaneo, A., Cattane, N., Galluzzi, S., Lopizzo, N., Festari, C., Ferrari, C., Guerra, U.P., Paghera, B., Muscio, C., Bianchetti, A., Volta, G.D., Tural, M., Cotelli, M.S., Gennus, M., Prella, A., Zanetti, O., Lussignoli, G., Mirabile, D., Bellandi, D., Gentile, S., Belotti, G., Villani, T., Harach, T., Bolmont, T., Padovani, A., Boccardi, M., Frisoni, G.B. 2016. Association of brain amyloidosis with pro-inflammatory gut bacterial taxa and peripheral inflammation markers in cognitively impaired elderly. *Neurobiol. Aging* 49, 60–69. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.08.019>.
- 50) Cesari, M., Landi, F., Vellas, B., Bernabei, R., Marzetti, E. 2014. Sarcopenia and physical frailty: two sides of the same coin. *Front. Aging Neurosci.* 6, 192. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2014.00192>.
- 51) Cheng, J., Nonaka, T., Ye, Q., Wei, F., Wong, D.T.W. 2020. In: Granger, D.A., Taylor, M. K. (Eds.), *Salivaomics, Saliva-Exosomics, and Saliva Liquid Biopsy*. Salivary Bioscience, Los Angeles, CA, USA, pp. 157–179. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-35784-9\\_8157](https://doi.org/10.1007/978-3-030-35784-9_8157).
- 52) Collard, R.M., Boter, H., Schoevers, R.A. 2012. Prevalence of frailty in community-dwelling older persons: a systematic review. *Journal American Geriatric Society*, 60, 1487-1492 <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2012.04054.x>.
- 53) Collerton, J., Martin-Ruiz, C., Davies, K., Hilkens, C.M., Isaacs, J., Kolenda, C., Parker, C., Dunn, M., Catt, M., Jagger, C., Zglinicki, T., Kirkwood, T.B.L. 2012. Frailty and the role of inflammation, immunosenescence and cellular ageing in the very old: cross-sectional finding from the newcastel 85+study. *Mech. Ageing Dev.* 133, 456–466. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2012.05.005>.
- 54) Colman, H., Zhang, L., Sulman, E. P., McDonald, J. M., Shooshtari, N. L., Rivera, A., Popoff, S., Nutt, C.L., Louis D.N., Cairncross, J.G., Gilbert, M.R., Phillips, H.S., Mehta, M.P., Chakravarti, A., Pelloski, C.E., Bhat, K., Feuerstein, B.G., Jenkins, R.B., Aldape, K. 2010. A multigene predictor of outcome in glioblastoma. *Neuro Oncol*, 12, 49-57. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nop007>.
- 55) Collins, A.R. & Grubb, A. 1998. Cystatin D, a natural salivary cysteine protease inhibitor, inhibits coronavirus replication at its physiologic concentration. *Oral Microbiol and Immunol*, 13, 59-61. <https://doi.org/10.1111/j.1399-302x.1998.tb00753.x>.

- 56) Coppé, J.P., Patil, C.K., Rodier, F., Sun, Y., Muñoz, D.P., Goldstein, J., Nelson, P.S., Desprez, P.Y., Campisi, J. 2008. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.* 6 <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060301>.
- 57) Corner, C. E. 2009. Frailty: the looming epidemic. *Ala Nurse*, 35, 25-26.
- 58) Cosculluela i Vidal, M. 1999. Consejos para mejorar el estado físico de pacientes con enfermedad de Parkinson; Bristol-Myers-Squibb. Con el aval de Sociedad Española de Neurología.
- 59) Crow, M., Lim, N., Ballouz, S., Pavlidis, P., Gillis, J. 2019. Predictability of human differential gene expression. *PNAS* 116, 6491–6500. <https://doi.org/10.1073/pnas.1802973116>.
- 60) Dalchau, R., Kirkley, J., Fabre, J.W. 1980. Monoclonal antibody to a human brain-granulocyte-T lymphocyte antigen probably homologous to the W 3/13 antigen of the rat. *Eurjournal J Immunol*, 10, 745-749. <https://doi.org/10.1002/eji.1830101003>
- 61) Dalrymple, L.S., Katz, R., Rifkin, D.E., Siscovick, D., Newman, A.B., Fried, L.F., Sarnak, M.J., Odden, M.C., Shlipak, M.G. 2013. Kidney function and prevalent and incident frailty. *Clin J Am Soc Nephrol.* 12, 2091-2099. <https://doi.org/10.2215/CJN.02870313>.
- 62) Davies, B., García, F., Ara, I., Artalejo, F.R., Rodriguez-Mañas, L., Walter, S. 2018. Relationship between sarcopenia and frailty in the Toledo study of healthy aging: a population based cross-sectional study. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 19, 282–286. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2017.09.014>.
- 63) De Almeida, P.D.V., Gregio, A.M., Machado, M.A., De Lima, A.A., Azevedo, L.R. 2008. Saliva composition and functions: a comprehensive review. *J. Contemp. Dent. Pract.* 9, 72–80. <https://doi.org/10.5005/jcdp-9-3-72>.
- 64) De Felice, F.G., Ferreira, S.T. 2014. Inflammation, defective insulin signaling, and mitochondrial dysfunction as common molecular denominators connecting type 2 diabetes to alzheimer disease. *Diabetes* 63, 2262–2272. <https://doi.org/10.2337/db13-1954>.
- 65) De Helsinki, D. 2013. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. *Asociación Médica Mundial*, 59.
- 66) Dejica, V. M., Mort, J. S., Laverty, S., Antoniou, J., Zukor, D. J., Tanzer, M., Poole, A. R. 2012. Increased type II collagen cleavage by cathepsin K and collagenase activities with aging and osteoarthritis in human articular cartilage. *Arthritis Res Ther*, 14, 1-9. <https://doi.org/10.1186/ar3839>.
- 67) Delgado, C., Araneda, A. & Behrens, M.I. 2019. Validación del instrumento Montreal Cognitive Assessment en español en adultos mayores de 60 años. *Neurología*, 34, 376-385. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2017.01.013>.
- 68) De Martinis, M., Franceschi, C., Monti, D., Ginaldi, L. 2006. Inflammation markers predicting frailty and mortality in the elderly. *Exp. Mol. Pathol.* 80, 219–227. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2005.11.004>.

- 69) Desquilbet, L., Jacobson, L.P., Fried, L.P., Phair, J.P., Jamieson, B.D., Holloway, M., Margolick, J.B. 2007. HIV-1 infection is associated with an earlier occurrence of a phenotype related to frailty. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 62, 1279–1286. <https://doi.org/10.1093/gerona/62.11.1279.7>.
- 70) Desquilbet, L., Margolick, J.B., Fried, L.P., Phair, J.P., Jamieson, B.D., Holloway, M., Jacobson, L.P. 2009. Relationship between a frailty-related phenotype and progressive deterioration of the immune system in HIV-infected men. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 50, 299–306. <https://doi.org/10.1097/qai.0b013e3181945eb0>.
- 71) Dewan, S.K., Zheng, S.B., Xia, S.J., Bill, K. 2012. Senescent remodeling of the immune system and its contribution to the predisposition of the elderly to infections. *Chin. Med. J.* 125, 3325–3331. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2012.18.023>.
- 72) Dhanwal, D.K., Dennison, E.M., Harvey, N.C., Cooper, C. 2011. Epidemiology of hip fracture: worldwide geographic variation. *Indian J. Orthop.* 45, 15–22. <https://doi.org/10.4103/0019-5413.73656>.
- 73) Díaz-Martínez, A. & Espinosa-Medina, C. 2022. Prevalencia de Osteoporosis en adulto mayor de la casa del abuelo, Tuxtla Gutierrez, Chiapas.
- 74) Dickinson, D. P., Thiesse, M., & Hicks, M. J. 2002. Expression of type 2 cystatin genes CST1-CST5 in adult human tissues and the developing submandibular gland. *DNA Cell Biol* 21, 47-65.
- 75) Di Sabatino, A., Lenti, M.V., Cammalleri, L., Corazza, G.R., Pilotto, A. 2018. Frailty and the gut. *Dig. Liver Dis.* 50, 533–541. <https://doi.org/10.1016/j.dld.2018.03.010>.
- 76) Dodds, R.M., Davies, K., Granic, A., Hollingsworth, K.G., Warren, C., Gorman, G., Turnbull, D.M., Sayer, A.A. 2018. Mitochondrial respiratory chain function and content are preserved in the skeletal muscle of active very old men and women. *Exp Gerontol*, 113, 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2018.09.020>.
- 77) Donmez, G., Wang, D., Cohen, D.E., Guarente, L. 2014. Retraction notice to: SIRT1 suppresses  $\beta$ -amyloid production by activating the  $\alpha$ -secretase gene ADAM10. *Cell* 158, 959. <https://doi.org/10.1126/science.1249098>.
- 78) Dou, Y., Lv, Y., Zhou, X., He, L., Liu, L., Li, P., Sun, Y., Wang, M., Gao, M., Wang, C. 2018. Antibody-sandwich ELISA analysis of a novel blood biomarker of CST4 in gastrointestinal cancers. *Onco Targets Therapy*, 1743-1756. <https://doi.org/10.2147/OTT.S149204>.
- 79) Dubois, B., Slachevsky, A., Litvan, I., & Pillon, B.F. A. B. 2000. The FAB: a frontal assessment battery at bedside. *Neurology*, 55, 1621-1626. <https://doi.org/10.1212/wnl.55.11.1621>.
- 80) Duggal, N.A., Beswetherick, A., Upton, J., Hampson, P., Phillips, A.C., Lord, J.M. 2014. Depressive symptoms in hip fracture patients are associated with reduced monocyte superoxide production. *Exp. Gerontol.* 54, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2014.01.028>.

- 81) Dupuy, A. & Simon, R.M. 2007. Critical review of published microarray studies for cancer outcome and guidelines on statistical analysis and reporting. *J Natl Cancer Inst* 99, 147-157. <https://doi.org/10.1093/jnci/djk018>.
- 82) Dyhrfort, P., Shen, Q., Clausen, F., Thulin, M., Enblad, P., Kamali-Moghaddam, M., Lewén, A., Hillered, L. 2019. Monitoring of protein biomarkers of inflammation in human traumatic brain injury using microdialysis and proximity extension assay technology in neurointensive care. *J Neurotrauma*, 36.2872-2885. <https://doi.org/10.1089/neu.2018.6320>.
- 83) Dzobo, K., & Sinkala, M. 2021. Cancer Stem Cell Marker CD44 Plays Multiple Key Roles in Human Cancers: Immune Suppression/Evasion, Drug Resistance, Epithelial–Mesenchymal Transition, and Metastasis. *Omics*, 25, 313-332. <https://doi.org/10.1089/omi.2021.0025>.
- 84) Dzwonek, J.& Wilczynski, G. M. 2015. CD44: molecular interactions, signaling and functions in the nervous system. *Front cell neurosci* 9, 175. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00175>.
- 85) Edwards, C., Counsell, A., Boulton, C., Moran, C.G. 2008. Early infection after hip fracture surgery: risk factors, costs and outcome. *J. Bone Joint Surg. Br.* 90, 770–777. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.90B6.20194>.
- 86) Egorov, E.S., Kasatskaya, S.A., Zubov, V.N., Izraelson, M., Nakonechnaya, T.O., Staroverov, D.B., Angius, A., Cucca, F., Mamedov, I.Z., Rosati, E., Franke, A., Shugay, M., Pogorelyy, M.V., Chudakov, D.M., Britanova, O.V. 2018. The changing landscape of naive T cell receptor repertoire with human aging. *Front. Immunol.* 9, 1–12. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01618>.
- 87) Eguchi, R., Karim, M.B., Hu, P., Sato, T., Ono, N., Kanaya, S., Altaf-Ul-Amin, M. 2018. An integrative network-based approach to identify novel disease genes and pathways: a case study in the context of inflammatory bowel disease. *BMC Bioinformatics.* 19, 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2251-x>.
- 88) Engeland, C.G., Bosch, J.A., Rohleder, N. 2019. Salivary biomarkers in psychoneuroimmunology. *Curr. Opin. Behav. Sci.* 28, 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2019.01.007>.
- 89) Enright, P. L., Kronmal, R. A., Manolio, T. A., Schenker, M. B., Hyatt, R. E. 1994. Respiratory muscle strength in the elderly. Correlates and reference values. Cardiovascular Health Study Research Group. *Am J Respir Crit Care Med*, 149, 430-438. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.149.2.8306041>.
- 90) Ensrud, K. E. 2013. Epidemiology of fracture risk with advancing age. *J Gerontol Series A: Biomedical Sci Med Sci*, 68, 1236-1242. <https://doi.org/10.1093/gerona/glt092>.
- 91) Erusalimsky, J.D., Grillari, J., Grune, T., Jansen-Duerr, P., Lippi, G., Sinclair, A.J., Tegner, J., Vina, J., Durrance-Bagale, A., Miñambres, R., Viegas, M., Rodríguez-Mañas, L., FRAILOMIC Consortium, 2016. In search of 'omics'-based biomarkers to predict risk of frailty and its consequences in older individuals: the FRAILOMIC Initiative. *Gerontology* 62, 182–190. <https://doi.org/10.1159/000435853>.
- 92) Ershler, W. B. 2007. A gripping reality: oxidative stress, inflammation, and the pathway to frailty. *J Appl Physiol*, 103, 3-5. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00375.2007>.

- 93) Fabbri, E., An, Y., Zoli, M., Simonsick, E.M., Guralnik, J.M., Bandinelli, S., Boyd, C.M., Ferrucci, L. 2015. Aging and the burden of multimorbidity: associations with inflammatory and anabolic hormonal biomarkers. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 70, 63–70. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu127>.
- 94) Fabbri, E., Chiles Shaffer, N., Gonzalez-Freire, M., Shardell, M.D., Zoli, M., Studenski, S. A., Ferrucci, L. 2017. Early body composition, but not body mass, is associated with future accelerated decline in muscle quality. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* 8, 490–499. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12183>.
- 95) Farrell, S., Mitnitski, A., Rockwood, K., Rutenberg, A. 2020. Generating synthetic aging trajectories with a weighted network model using cross-sectional data. *Sci. Rep.* 10, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76827-3>.
- 96) Feenstra, M., Oud, F.M.M., Jansen, C.J., Smidt, N., van Munster, B.C., de Rooij, S.E. 2021. Reproducibility and responsiveness of the frailty index and frailty phenotype in older hospitalized patients. *BMC Geriatr.* 21, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12877-021-02444-y>.
- 97) Feijóo, M.V., Pernas, F.O., Callejas, A.S., García, C.V., Espuña, I.P., del Val García, J.L. 2022. Impact of Frailty and COVID-19 in a Cohort of Elderly People in the City of Barcelona. In: [Impacto de la fragilidad y COVID-19 en una cohorte de gente mayor de la ciudad de Barcelona], 54. Atención primaria: Publicación oficial de la Sociedad Española de Familia y Comunitaria, p. 4.
- 98) Feng, L., Zin Nyunt, M.S., Gao, Q., Feng, L., Yap, K.B., Ng, T.P. 2017. Cognitive frailty and adverse health outcomes: findings from the Singapore longitudinal ageing studies (SLAS). *J. Am. Med. Assoc.* 18, 252–258. <https://doi.org/10.1016/j.jamda.2016.09.015>.
- 99) Ferrer-Mayorga, G., Alvarez-Díaz, S., Valle, N., De Las Rivas, J., Mendes, M., Barderas, R., Canals, F., Tapia, O., Casal, J.I., Lafarga, M., Munoz, A. 2015. Cystatin D locates in the nucleus at sites of active transcription and modulates gene and protein expression. *J Biol Chem*, 290, 26533-26548. <http://doi.org/10.1074/jbc.M115.660175>.
- 100) Ferrucci, L., Fabbri, E. 2018. Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nat. Rev. Cardiol.* 15, 505–522. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0064-2>.
- 101) Ferrucci, L., Harris, T.B., Guralnik, J.M., Tracy, R.P., Corti, M.C., Cohen, H.J., Penninx, B., Pahor, M., Wallace, R., Havlik, R.J. 1999. Serum IL-6 level and the development of disability in older persons. *J. Am. Geriatr. Soc.* 47, 639–646. <https://doi.org/10.1515/9783110432251-103>.
- 102) Ferrucci, L., Corsi, A., Lauretani, F., Bandinelli, S., Bartali, B., Taub, D.D., Guralnik, J., Longo, D.L. 2005. The origins of age-related proinflammatory state. *Blood* 105, 2294–2299. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-07-2599>.
- 103) Filaire, E., Bonis, J., Lac, G. 2004. Relationships between physiological and psychological stress and salivary immunoglobulin a among young female gymnasts. *Percept. Mot. Skills* 99, 605–617. <https://doi.org/10.2466/pms.99.2.605-617>.
- 104) Franceschi, C., Monti, D., Sansoni, P., Cossarizza, A. 1995. The immunology of exceptional individuals: the lesson of centenarians. *Immunol. Today* 16, 12–16. [https://doi.org/10.1016/0167-5699\(95\)80064-6](https://doi.org/10.1016/0167-5699(95)80064-6).

- 105) Franceschi, C., Valensin, S., Lescai, F., Olivieri, F., Licastro, F., Grimaldi, L.M., Monti, E. D., Benedicts, G.De, Bonafé, M. 2001. Neuroinflammation and the genetics of Alzheimer's disease: the search for a pro-inflammatory phenotype. *Aging* 13, 163–170. <https://doi.org/10.1007/bf03351475>.
- 106) Franceschetti, S., Sancini, G., Buzzi, A., Paradiso, B., Magnaghi, G., Frassoni, C., Chikhladze, M., Avanzini, G., Simonato, M., A pathogenetic hypothesis of Unverricht-Lundborg disease onset and progression. *Neurobiology Dis*, 25, 675-685
- 107) Frangogiannis, N.G. 2012. Biomarkers: Hopes and challenges in the path from discovery to clinical practice. *Transl. Res.* 159, 197–204. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.01.023>.
- 108) Frantzi, M., Bhat, A., Latosinska, A. 2014. Clinical proteomic biomarkers: relevant issues on study design & technical considerations in biomarker development. *Clin. Transl. Med.* 3, 7. <https://doi.org/10.1186%2F2001-1326-3-7>.
- 109) Frasca, D., Díaz, A., Romero, M., Garcia, D., Blomberg, B.B. 2020. B cell immunosenescence. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 36, 551–574. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-011620-034148>.
- 110) Fried, L.P., Tangen, C.M., Walston, J., Newman, A.B., Hirsch, C., Gottdiener, J., Seeman, T., Tracy, R., Kop, W.J., Burke, G., McBurnie, M.A. 2001. Frailty in older adults: evidence for a phenotype. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 56, 146–157. <https://doi.org/10.1093/gerona/56.3.m146>.
- 111) Fried, L. P., Ferrucci, L., Darer, J., Williamson, J.D., Anderson, G. 2004. Untangling the concepts of disability, frailty and comorbidity: implications for improved targeting and care. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 59, 255 – 63. <https://doi.org/10.1093/gerona/59.3.m255>.
- 112) Friedland, R.P., 2015. Mechanisms of molecular mimicry involving the microbiota in neurodegeneration. *J. Alzheimers Dis.* 45, 349–362. <https://doi.org/10.3233/JAD-142841>.
- 113) Freije, J. P., Balbin, M., Abrahamson, M., Velasco, G., Dalbøge, H., Grubb, A., Lopez-Otin, C. 1993. Human cystatin D. cDNA cloning, characterization of the Escherichia coli expressed inhibitor, and identification of the native protein in saliva. *J Biol Chem*, 268, 15737-15744. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)82317-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)82317-1).
- 114) Fulop, T., Dupuis, G., Fortin, C., Douziech, N., Larbi, A. 2006. T cell response in aging: influence of cellular cholesterol modulation. In: Tsoukas, C. (Ed.), *Lymphocyte Signal Transduction*. *Adv Exp Med Biol*, San Diego USA, pp. 157–158. [https://doi.org/10.1007/0-387-34132-3\\_12](https://doi.org/10.1007/0-387-34132-3_12).
- 115) Fulop, T., Fortin, C., Lesur, O., Dupuis, G., Kotb, J.R., Lord, J.M., Larbi, A. 2012. The innate immune system and aging: what is the contribution to immunosenescence? *Open Longev. Sci.* 6, 121–132. <https://doi.org/10.2174/1876326X01206010121>.
- 116) Fulop, T., Dupuis, G., Baehl, S., Le Page, A., Bourgade, K., Frost, E., Witkowski, J.M., Pawelec, G., Larbi, S.C., Cunnane, S. 2016. From inflamm-aging to immune- paralysis: a slippery slope during aging for immune-adaptation. *Biogerontology* 17, 147–157. <https://doi.org/10.1007/s10522-015-9615-7>.



- 117) Fulop, T., Larbi, A., Dupuis, G., Le Page, A., Frost, E.H., Cohen, A.A., Witkowski, J.M., Franceschi, C. 2018. Immunosenescence and inflamm-aging as two sides of the same coin: friends or Foes? *Front. Immunol.* 8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01960>.
- 118) Fülöp, T., Larbi, A., Witkowski, J.M. 2019. Human inflammaging. *Gerontology* 65, 495–504. <https://doi.org/10.1159/000497375>.
- 119) Gale, C.R., Baylis, D., Cooper, C., Sayer, A.A. 2013. Inflammatory markers and incident frailty in men and women: the english longitudinal study of ageing. *Age.* 35, 2493–2501. <https://doi.org/10.1007/s11357-013-9528-9>.
- 120) Ganter, U., Arcone, R., Toniatti, C., Morrone, G., Ciliberto, G. 1989. Dual control of C-reactive protein gene expression by interleukin-1 and interleukin-6. *EMBO J.* <https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1989.tb08554.x>.
- 121) García-González, J.V., Díaz-Palacios, E., Salamea, A., Cabrera, D., Menéndez, A., Fernández-Sánchez, A., Acebal, V. 1999. Evaluación de la fiabilidad y validez de una escala de valoración social en el anciano. *Aten Primaria* 23: 434-40.
- 122) García-Nogueras, I., Aranda-Reneo, I., Peña-Longobardo, L.M., Oliva-Moreno, J., Abizanda, P. 2017. Use of health resources and healthcare costs associated with nutritional risk: the FRADEA study. *J. Nutr. Health Aging* 21, 207–214. <https://doi.org/10.1007/s12603-016-0727-9>.
- 123) Garlanda, C., Dinarello, C.A., Mantovani, A. 2013. In: *The Interleukin-1 Family: Back to the Future*, 39, pp. 1003–1018. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.11.010>.
- 124) Gazapo, R. & Caturla, A. 1996 Utilidad clínica de la determinación de beta-2-microglobulina. *Medicina clínica*, 106
- 125) Giacomini, A., Ghedini, G.C., Presta, M., Ronca, R. 2018. Long pentraxin 3: a novel multifaceted player in cancer. *Biochim. Biophys. Acta Rev. Cancer* 1869, 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.bbcan.2017.11.004>.
- 126) Gil-Montoya, J. A., Ferreira de Mello, A. L., Barrios, R., Gonzalez-Moles, M. A., Bravo, M. 2015. Oral health in the elderly patient and its impact on general well-being: a nonsystematic review. *Clin Interv Aging*, 461-467. <https://doi.org/10.2147/CIA.S54630>
- 127) Goble, D. J., Coxon, J. P., Wenderoth, N., Van Impe, A., Swinnen, S. P. 2009. Proprioceptive sensibility in the elderly: degeneration, functional consequences and plastic-adaptive processes. *Neurosci Biobehav Rev*, 33, 271-278. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.08.012>.
- 128) Gohel, V., Jones, J.A., Wehler, C.J. 2018. Salivary biomarkers and cardiovascular disease: a systematic review. *Clin. Chem. Lab. Med.* 56, 1432–1442. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-1018>.
- 129) Gómez Zermeño, M. G. & Peña Cereceres, J. 2013. Adultos Mayores. Un estudio socioeducativo en Ciudad Juárez, Chihuahua, México. *Revista Interamericana de Educación de Adultos.* 35.

- 130) Gómez-Rubio, P., Trapero, I., Cauli, O., Buigues, C. 2022. Salivary IL-6 concentration is associated with frailty syndrome in older individuals. *Diagnostics* 12, 117. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12010117>.
- 131) González, M., Facal, D., Yaguas, J. 2013. Funcionamiento cognitivo en personas mayores e influencia de variables socioeducativas: resultados del Estudio ELES. *Escritos de Psicología (Internet)*, 6, 34-42.
- 132) Goodsell, D.S. 2005. The molecular perspective: tamoxifen and the estrogen receptor. *Stem Cells* 10, 758–759. <https://doi.org/10.1634/stemcells.20-3-267>.
- 133) Goyal, B., Goyal, D. 2020. Targeting the dimerization of the Main protease of coronaviruses: a potential broad-Spectrum therapeutic strategy. *ACS Comb. Sci.* 22, 297–305. <https://doi.org/10.1021/acscombsci.0c00058>.
- 134) Grän, F., Kerstan, A., Serfling, E., Goebeler, M., Muhammad, K. 2020. Focus: Skin: Current Developments in the Immunology of Psoriasis. *Yale J Biol Med*, 93, 97.
- 135) Gray, S.L., Anderson, M.L., Hubbard, R.A., Lacroix, A., Crane, P.K., McCormick, W., Bowen, J.D., McCurry, S.M., Larson, E.B. 2013. Frailty and incident dementia. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 68, 1083–1090. <https://doi.org/10.1093/gerona/glt013>.
- 136) Grimby, G. 1986. Physical activity and muscle training in the elderly. *Acta Medica Scandinavica*, 220, 233-237. <https://doi.org/10.1111/j.1475-097x.1983.tb00704.x>.
- 137) Grote, C., Reinhardt, D., Zhang, M., & Wang, J. 2019. Regulatory mechanisms and clinical manifestations of musculoskeletal aging. *J Orthop Res.* 37, 1475-1488. <https://doi.org/10.1002/jor.24292>.
- 138) Grosicki, G.J., Fielding, R.A., Lustgarten, M.S. 2018. Gut microbiota contribute to age-related changes in skeletal muscle size, composition, and function: biological basis for a gut-muscle Axis. *Calcif. Tissue Int.* 102, 433–442. <https://doi.org/10.1007/s00223-017-0345-5>.
- 139) Gorski, K., Spoljaric, A., Nyman, T.A., Kaila, K., Battersby, B. J., Lehesjoki, A. E. 2020. Quantitative changes in the mitochondrial proteome of cerebellar synaptosomes from preclinical cystatin B-deficient mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13, 570640. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.570640>.
- 140) Guigoz, Y., Vellas, B., Garry, P.J. 1996. Assessing the nutritional status of the elderly: The Mini Nutritional Assessment as part of the geriatric evaluation. *Nutr Rev*; 54:S59-S65.
- 141) Hajek, A., Bock, J.O., Saum Matschinger, K.U.H., Brenner, H., Holleczeck, B., Haefeli, W. E., Heider, D., König, H.H. 2018. Frailty and healthcare costs-longitudinal results of a prospective cohort study. *Age Ageing* 47, 233–241. <https://doi.org/10.1093/ageing/afx157>.
- 142) Hajjar, I., Yang, F., Sorond, F., Jones, R.N., Milberg, W.Cupples, L.A, Lipsitz, L.A., 2009. A novel aging phenotype of slow gait, impaired executive function, and depressive symptoms: relationship to blood pressure and other cardiovascular risks. *J Gerontol Sci Med Sci*, 64, 994-1001. <https://doi.org/10.1093/gerona/glp075>.
- 143) Han, E.S., Lee, Y., Kim, J.2014. Association of cognitive impairment with frailty in community-dwelling older adults. *Int. Psychogeriatr.* 26, 155–163. <https://doi.org/10.1017/S1041610213001841>.

- 144) Haq, K., McElhaney, J.E. 2014. Ageing and respiratory infections: the airway of ageing. *Immunol. Lett.* 162, 323–328. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.06.009>.
- 145) Harada, C.N., Love, M. C.N., & Triebel, K. L. 2013. Normal cognitive aging. *Clin Geriatr Med*, 29, 737-752. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2013.07.002>.
- 146) Haran, J.P., Suner, S., Gardiner, F.2012. Correlation of C-reactive protein to severity of symptoms in acute influenza a infection. *J. Emerg. Trauma Shock* 5, 149–152. <https://doi.org/10.4103/0974-2700.96484>.
- 147) Harding, A., Gonder, U., Robinson, S.J., Crean, S.J., Singhrao, S.K. 2017. Exploring the association between Alzheimer’s disease, oral health, microbial endocrinology and nutrition. *Front. Aging Neurosci.* 9, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00398>.
- 148) Hart, H., Radua, J., Nakao, T., Mataix-Cols, D., Rubia, K. 2013. Meta-analysis of functional magnetic resonance imaging studies of inhibition and attention in attention-deficit/hyperactivity disorder: exploring task-specific, stimulant medication, and age effects. *JAMA psychiatry*, 70, 185-198. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.277>.
- 149) .Hart, A., Blackwell, T.L., Paudel, M.L., Taylor, B.C., Orwoll, E.S., Cawthon, P.M., Ensrud, K.E., Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Group. 2017. Cystatin C and the risk of frailty and mortality in older men. *J Geront A: Biol Med Sci.* 72, 965-970. <https://doi.org/10.1093/gerona/glw223>.
- 150) Herrero, M.J., Blanch, J., Peri, J.M., De Pablo, J., Pintor, L.& Bulbena, A. 2003. A validation study of the hospital anxiety and depression scale (HADS) in a Spanish population. *General hospital psychiatry*, 25, 277-283. [https://doi.org/10.1016/S0163-8343\(03\)00043-4](https://doi.org/10.1016/S0163-8343(03)00043-4).
- 151) Hiles, S.A., Baker, A.L., de Malmanche, T., Attia, J., 2012. A meta-analysis of differences in IL-6 and IL-10 between people with and without depression: exploring the causes of heterogeneity. *Brain Behav. Immun.* 26, 1180–1188. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.06.001>.
- 152) Hill, N.T., Mowszowski, L., Naismith, S.L., Chadwick, V.L., Valenzuela, M., Lampit, A. 2017. Computerized cognitive training in older adults with mild cognitive impairment or dementia: a systematic review and meta-analysis. *Am J Psychiatry*, 174, 329-340. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2016.16030360>.
- 153) Howlett, S.E., Rockwood, K., 2013. New horizons in frailty: ageing and the deficit-scaling problem. *Age Ageing* 42, 416–423. <https://doi.org/10.1093/ageing/aft059>.
- 154) Holtzer, R., Epstein, N., Mahoney, J. R., Izzetoglu, M., Blumen, H. M. 2014. Neuroimaging of mobility in aging: a targeted review. *J Gerontol A: Bio Sci Med Sci* 69, 1375-1388. <https://doi.org/10.1093/gerona/glu052>.
- 155) Hu, S., Xie, Y., Ramachandran, P., Ogorzalek Loo, R.R., Li, Y., Loo, J.A., Wong, D.T., 2005. Large-scale identification of proteins in human salivary proteome by liquid chromatography/mass spectrometry and two-dimensional gel electrophoresis-mass spectrometry. *Proteomics* 5, 1714–1728. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401037>.
- 156) Hubbard, I.J., Parsons, M.W., Neilson, C., Carey, L.M., 2009. Task-specific training: evidence for and translation to clinical practice. *Occup. Ther. Int.* 16, 175–189. <https://doi.org/10.1002/oti.275>.

- 157) Hubbard, R. E., Lang, I. A., Llewellyn, D. J., Rockwood, K. 2010. Frailty, body mass index, and abdominal obesity in older people. *J Gerontol A: Bio Sci Med Sci*, 65, 377-381. <https://doi.org/10.1093/gerona/glp186>.
- 158) Hughes, M.M., Praphasiri, P., Dawood, F.S., Sornwong, K., Ditsungnoen, D., Mott, J.A., Prasert, K., 2019. Effect of acute respiratory illness on short-term frailty status of older adults in Nakhon Phanom, Thailand—June 2015 to June 2016: a prospective matched cohort study. *Influenza Other Respir. Viruses* 13, 391–397. <https://doi.org/10.1111/irv.12638>.
- 159) Inker, L.A., Schmid, C.H., Tighiouart, H., Eckfeldt, J.H., Feldman, H.I., Greene, T., Levey, A. S., CKD-EPI Investigators 2012. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med*. 367, 20-29. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1114248>.
- 160) Isemura, S., Saitoh, E., Sanada, K., Minakata, K. 1999. Identification of full-sized forms of salivary (S-type) cystatins (cystatin SN, cystatin SA, cystatin S, and two phosphorylated forms of cystatin S) in human whole saliva and determination of phosphorylation sites of cystatin S. *J Biochem*, 110, 648-654. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a123634>
- 161) Iwai-Saito, K., Shobugawa, Y., Aida, J., Kondo, K., 2021. Frailty is associated with susceptibility and severity of pneumonia in older adults (A JAGES multilevel cross-sectional study). *Sci. Rep.* 11, 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86854-3>.
- 162) Jiménez Navarro, M., Castro, A., Ballesteros Pradas, S., Cruzado Álvarez, C., Gómez Doblaz, J.J., Marzal Martín, D., Alfonso, F., 2020. Comments on the 2019 ESC guidelines on diabetes, prediabetes, and cardiovascular disease. *Rev. Esp. Cardiol. (Engl. Ed.)* 73, 354–360.
- 163) Jones, L.L., Kreutzberg, G.W. & Raivich, G. 1997. Regulation of CD44 in the regenerating mouse facial motor nucleus. *Eur J Neurosci*, 9, 1854-1863. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.1997.tb00752.x>.
- 164) Joseph, A.M., Adihetty, P.J., Buford, T.W., Wohlgemuth, S.E., Lees, H.A., Nguyen, L.M. D., Aranda, J.M., Sandesara, B.D., Pahor, M., Manini, T.M., Emanuele, M., Leeuwenburgh, C. 2012. The impact of aging on mitochondrial function and biogenesis pathways in skeletal muscle of sedentary high- and low-functioning elderly individuals. *Aging Cell* 11, 801–809. <http://doi.org/10.1016/j.rec.2019.11.018>.
- 165) Juárez-Cedillo, T., Vargas-Alarcón, G., Martínez-Rodríguez, N., Juárez-Cedillo, E., Fragoso, J.M., Escobedo-de-la-Peña, J. 2019. Interleukin 10 gene polymorphisms and frailty syndrome in elderly Mexican people: (Sadem study). *Mol. Genet. Genom. Med.* 7, e918 <https://doi.org/10.1002/mgg3.918>.
- 166) Juncos Rabadán, O. & Pereiro Rozas, A. 2002. Problemas del lenguaje y la tercera edad: orientaciones y perspectivas de la logopedia. *Revista galego-portuguesa de psicoloxía e educación.* 8, 387-398.
- 167) Justice, J.N., Ferrucci, L., Newman, A.B., Aroda, V.R., Bahnson, J.L., Divers, J., Espeland, M.A., Marcovina, S., Pollak, M.N., Kritchevsky, S.B., Barzilai, N., Kuchel, G.A. 2018. A framework for selection of blood-based biomarkers for geroscience-guided clinical trials: report from the TAME biomarkers workgroup. *Geroscience.* 40, 419–436. <https://doi.org/10.1007/s11357-018-0042-y>.

- 168) Kabasawa, K., Tanaka, J., Komata, T., Matsui, K., Nakamura, K., Ito, Y., Narita, I. 2021. Determination of specific life changes on psychological distress during the COVID-19 pandemic. *PLoS One*, 16, e0256481. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0256481>.
- 169) Kaipainen, T., Hartikainen, S., Tiihonen, M., Nykänen, I. 2022. Effect of individually tailored nutritional counselling on protein and energy intake among older people receiving home care at risk of or having malnutrition: a non-randomised intervention study. *BMC Geriatr*, 22, 391. <https://doi.org/10.1186/s12877-022-03088-2>.
- 170) Kanwar, A., Singh, M., Lennon, R., Ghanta, K., McNallan, S.M. Roger, V.L. 2013. Frailty and health-related quality of life among residents of long-term care facilities. *J Aging health*, 25, 792-802. <https://doi.org/10.1177/0898264313493003>,
- 171) Karczewski, K., Snyder, M.P. 2018. Integrative omics for health and disease. *Nat Rev Genet*. 19, 299–310. <https://doi.org/10.1038/nrg.2018.4>.
- 172) Kwak, J.Y., Hwang, H., Kim, S.K., Choi, J.Y., Lee, S.M., Bang, H., Kwon, E.S., Lee, K.P., Chung, S.G., Kwon, K. S. 2018. Prediction of sarcopenia using a combination of multiple serum biomarkers. *Sci Rep*, 8, 8574. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26617-9>.
- 173) Kerber, K. A., Ishiyama, G. P., Baloh, R.W. 2006. A longitudinal study of oculomotor function in normal older people. *Neurobiol Aging*, 27, 1346-1353. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2005.07.009>.
- 174) Kelaiditi, E., Cesari, M., Canevelli, M. 2013. Cognitive frailty: rationale and definition from an (I. A. N. A./ I. A. G. G.) international consensus group. *J. Nutr. Health Aging* 17. <https://doi.org/10.1007/s12603-013-0367-2>.
- 175) Keller, C. R., Odden, M. C., Fried, L. F., Newman, A. B., Angleman, S., Green, C. A., Cummings, S.R., Harris, T.B., Shlipak, M. G. 2007. Kidney function and markers of inflammation in elderly persons without chronic kidney disease: the health, aging, and body composition study. *Kidney Int*, 71, 239-244. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002042>.
- 176) Kennedy, B.K., Berger, S.L., Brunet, A., Campisi, J., Cuervo, A.M., Epel, E.S., Franceschi, C., Lithgow, G.J., Morimoto, R.I., Pessin, J.E., Rando, T.A., Richardson, A., Schadt, E.E., Wyss-Cory, T., Sierra, F. 2014. Geroscience: linking aging to chronic disease. *Cell* 159, 709–713. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.039>.
- 177) Kerr, A., Syddall, H. E., Cooper, C., Turner, G.F., Briggs, R.S. & Sayer, A. A. 2006. Does admission grip strength predict length of stay in hospitalised older patients?. *Age Ageing*, 35, 82-84. <https://doi.org/10.1093/ageing/afj010>.
- 178) Khurshid, Z., Zafar, M.S., Khan, R.S., Najeeb, S., Slowey, P.D., Rehman, I.U. 2018. Role of salivary biomarkers in oral cancer detection. *Adv. Clin. Chem.* 86 <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2018.05.002>.
- 179) Kietrys, D. M., Barr-Gillespie, A. E., Amin, M., Wade, C. K., Popoff, S. N., Barbe, M.F. 2012. Aging contributes to inflammation in upper extremity tendons and declines in forelimb agility in a rat model of upper extremity overuse. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046954>.

- 180) Kim, S.W., Jung, H.W., Kim, C.H., Kim, K.I., Chin, H.J., Lee, H. 2016. A new equation to estimate muscle mass from creatinine and cystatin C. *PLoS One*, 11, e0148495. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148495>.
- 181) Kirkland, J.L., Tchkonja, R., 2017. Cellular senescence: a translational perspective. *EBioMedicine* 21, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.04.013>.
- 182) Kolb, B., & Whishaw, I.Q., 2006. *La memoria en Neuropsicología humana*. Madrid: Ed. Médica Panamericana. p. 471.
- 183) Korada, S.K.C., Zhao, D., Tibuakuu, M., Brown, T.T., Jacobson, L.P., Guallar, E., Bolan, R. K., Palella, F.J., Margolick, J.B., Martinson, J.J., Budoff, M.J., Post, W.S., Michos, E. D., 2017. Frailty and subclinical coronary atherosclerosis: the multicenter AIDS cohort study (MACS). *Atherosclerosis* 266, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.08.026>.
- 184) Kumar, R., Mohan, N., Upadhyay, A.D., Singh, A.P., Sahu, V., Dwivedi, S., Dey, A.B., Dey, S., 2014. Identification of serum sirtuins as novel noninvasive protein markers for frailty. *Aging Cell* 13, 975–980. <https://doi.org/10.1111/ace.12260>.
- 185) Kumagi T, Akbar F, Horiike N., Onji M 2001 Increased serum levels of macrophage migration inhibitory factor in alcoholic liver diseases and their expression in liver tissues. *Clinical Biochemistry* 34 189–193. [https://doi.org/10.1016/s0009-9120\(01\)00214-4](https://doi.org/10.1016/s0009-9120(01)00214-4).
- 186) Kurella, M., Chertow, G.M., Luan, J., Yaffe, K. 2004. Cognitive impairment in chronic kidney disease. *J Am Geriatr Soc*, 52, 1863-1869. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2004.52508.x>.
- 187) Lang, C.E., MacDonald, J.R., Reisman, D.S., Boyd, L., Kimberley, T.J., Schindler-Ivens, S. M., Hornby, T.G., Ross, S.A., Scheets, P. L. 2009. Observation of amounts of movement practice provided during stroke rehabilitation. *Arch Phys Med and Rehabil*, 90, 1692-1698. <https://doi.org/10.1016/j.apmr.2009.04.005>.
- 188) Lamberts S.W, Van Den Beld A.W, Van Der Lely A. Endocrinology of aging. *Science* 1995. 278:419-24. <https://doi.org/10.1126/science.278.5337.419>.
- 189) Landau, E.R., Trinder, J., Simmons, J.G., Raniti, M., Blake, M., Waloszek, J.M., Blake, L., Schwartz, O., Murray, G., Allen, N.B., Byrne, M.L., 2019. Salivary C-reactive protein among at-risk adolescents: a methods investigation of out of range immunoassay data. *Psychoneuroendocrinology* 99, 104–111. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2018.08.035>.
- 190) Lakatta, E. G. & Levy, D. 2003. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: Part II: the aging heart in health: links to heart disease. *Circulation*, 107, 346-354. <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000048893.62841.f7>.
- 191) Lee, W.J., Chen, L.K., Liang, C.K., Peng, L.N., Chiou, S.T., Chou, P., 2016. Soluble ICAM-1, independent of IL-6, is associated with prevalent frailty in community-dwelling elderly taiwanese people. *PLoS One* 11, 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157877>.
- 192) Lees, C., Godin, J., McElhaney, J.E., McNeil, S.A., Loeb, M., Hachette, T.F., Andrew, M. K., 2020. Frailty hinders recovery from influenza and acute respiratory illness in older adults. *J. Infect. Dis.* 222, 428–437. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa092>.

- 193) Leong, D.P., Teo, K.K., Rangarajan, S., Lopez-Jaramillo, P., Avezum, A., Orlandini, A., Seron, P., Ahmed S.H., Rosengren, A., Kelishadi, R., Rahmna, O., Swaminathan, S., Iqbal, R., Gupta, R., Lear, S.A., Oguz, A., Yusoff, K., Zatonska, K., Chifamba, J., Igumbor, E. Mohan, V., Anjana, R.M., Gu, H., Li, W., Yusuf, S. 2015. Prognostic value of grip strength: findings from the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study. *Lancet*, 386, 266-273. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)62000-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)62000-6).
- 194) Leung, K., Thuret, S., 2015. Gut microbiota: a modulator of brain plasticity and cognitive function in ageing. *Healthcare*. 3, 898–916. <https://doi.org/10.3390/healthcare3040898>.
- 195) Lezak, M. D., Howieson, D. B., Bigler, E. D., Tranel, D. 2012. *Neuropsychological assessment* (5th ed.). Oxford University Press.
- 196) Li, H., Manwani, B., Leng, S.X., 2011. Frailty, inflammation, and immunity. *Aging Dis.* 2, 466–473.
- 197) Libby, P., Ridker, P.M., Hansson, G.K., 2011. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* 473, 317–325. <https://doi.org/10.1038/nature10146>.
- 198) Lin, F., Roiland, R., Chen, D.G., Qiu, C., 2015. Linking cognition and frailty in middle and old age: metabolic syndrome matters. *Int. J. Geriatr. Psychiatry* 30, 64–71. <https://doi.org/10.1002/gps.4115>.
- 199) Lippi, G., Jansen-Duerr, P., Viñna, J., Durrance-Bagale, A., Abugessaisa, I., Gomez- Cabrero, D., Tegnér, J., Grillari, J., Erusalimsky, J., Sinclair, A., Rodriguez-Man˜as, L., FRAILOMIC Consortium, 2015. Laboratory biomarkers and frailty: presentation of the FRAILOMIC initiative. *Clin. Chem. Lab. Med.* 53, e253–e255. <https://doi.org/10.1515/ccim-2015-0147>
- 200) Liu, C.K., Lyass, A., Massaro, J.M., D’Agostino, R.B., Fox, C.S., Murabito, J.M., 2014. Chronic kidney disease defined by cystatin C predicts mobility disability and changes in gait speed: the Framingham offspring study. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 69, 301–307. <https://doi.org/10.1093/gerona/glt096>.
- 201) Liu, P., Li, Y., Zhang, Y., Mesbah, S.E., Ji, T., Ma, L., 2020. Frailty and hypertension in older adults: current understanding and future perspectives. *Hypertens. Res.* 43, 1352–1360. <https://doi.org/10.1038/s41440-020-0510-5>.
- 202) Loetscher, P., Uguccioni, M., Bordoli, L., Baggiolini, M., Moser, B., Chizzolini, C., Dayer, J.M., 1998. CCR5 is characteristic of Th1 lymphocytes. *Nature* 391, 344–345. <https://doi.org/10.1038/34814>.
- 203) López Angel, C.J., Pham, E.A., Du, H., Vallania, F., Fram, B.J., Perez, K., 2021. Signatures of immune dysfunction in HIV and HCV infection share features with chronic inflammation in aging and persist after viral reduction or elimination. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118, 1–10. <https://doi.org/10.1073/pnas.2022928118>.
- 204) López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G., 2013. The hallmarks of aging Europe PMC funders group. *Cell* 153, 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>.
- 205) Lord, W., Delbaere, K., Sturnieks D.L., 2018. Aging, in: *Open-ended Affordance Learning and Planning in a System with Active Vision*. B.L. Day and S.R. Lord, Editors. Australia, Sydney. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63916-5.00010-0>.

- 206) Luo, J., Tang, W., Sun, Y., Jiang, C., 2020. Impact of frailty on 30-day and 1-year mortality in hospitalised elderly patients with community-acquired pneumonia: a prospective observational study. *BMJ Open* 10, e038370. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-038370>.
- 207) Madden, D. J., Spaniol, J., Costello, M. C., Bucur, B., White, L. E., Cabeza, R., Davis, S.W., Dennis N.A., Provenzale J.M., Huettel, S. A. 2008. Cerebral white matter integrity mediates adult age differences in cognitive performance. *J Cogn Neurosci* 21, 289-302. <https://doi.org/10.1162/jocn.2009.21047>.
- 208) Magnusson, S. P. & Kjaer, M. 2019. The impact of loading, unloading, ageing and injury on the human tendon. *J Physiol.* 597, 1283-1298. <https://doi.org/10.1113/JP275450>.
- 209) Maynard, C.& Weinkove, D. 2018. The gut microbiota and ageing. *Subcell Biochem.* 351-371. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-2835-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-981-13-2835-0_12).
- 210) Marzetti, E., Lees, H.A., Manini, T.M., Buford, T.W., Aranda Jr., J.M., Calvaniabei, R., Capuani, G., Marsiske, M., Lott, D.J., Vandenborne, K., Bernabei, R., Pahor, M., Leeuwenburgh, C., Wohlgemuth, S.E., 2012. Skeletal muscle apoptotic signaling predicts thigh muscle volume and gait speed in community-dwelling older persons: an exploratory study. *PLoS One* 7, e32829. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032829>.
- 211) Matheï, C., Vaes, B., Wallemacq, P., Degryse, J., 2011. Associations between cytomegalovirus infection and functional impairment and frailty in the BELFRAIL cohort. *J. Am. Geriatr. Soc.* 59, 2201–2208. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2011.03719.x>.
- 212) Mathers, C.D., Stevens, G.A., Boerma, T., White, R.A., Tobias, M.I., 2015. Causes of international increases in older age life expectancy. *Lancet* 385, 540–548. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60569-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60569-9)
- 213) Martin-Ruiz, C. M., Gussekloo, J., van Heemst, D., von Zglinicki, T., Westendorp, R. G. 2005. Telomere length in white blood cells is not associated with morbidity or mortality in the oldest old: a population-based study. *Aging Cell*, 46, 287-290. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2005.00171.x>.
- 214) Matzke-Ogi, A., Jannasch, K., Shatirishvili, M., Fuchs, B., Chiblak, S., Morton, J., Tawk, B., Lindner, T., Sansom, O., Alves, F., Warth, A., S., Schwager, C., Mier, W., Kleeff, J., Ponta, H., Abdollahi, A., Orian-Rousseau, V. 2016. Inhibition of tumor growth and metastasis in pancreatic cancer models by interference with CD44v6 signaling. *Gastroenterology*, 150, 513-525. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.10.020>.
- 215) McCabe, S.M., Riddle, L., Nakamura, G.R., Prashad, H., 1993. SICAM 1 enhances cytokine production stimulated by alloantigen. *Cell. Immunol.* 150, 364–375. <https://doi.org/10.1006/cimm.1993.1204>.
- 216) Metter, E.J., Conwit, R., Tobin, J.& Fozard, J. L. 1997. Age-associated loss of power and strength in the upper extremities in women and men. *J Gerontol Sci Med Sci*, 52, B267-B276. <https://doi.org/10.1093/gerona/52a.5.b267>.
- 217) Mika, J., Zychowska, M., Popiolek-Barczyk, K., Rojewska, E., Przewlocka, B., 2013. Importance of glial activation in neuropathic pain. *Eur. J. Pharmacol.* 716, 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.01.072>.



- 218) Miller, G.E., Murphy, M.L.M., Cashman, R., Ma, R., Ma, J., Arevalo, J.M.G., Kobor, M.S., Cole, S.W., 2014. Greater inflammatory activity and blunted glucocorticoid signaling in monocytes of chronically stressed caregivers. *Brain Behav. Immun.* 41, 191–199. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.05.016>.
- 219) Miller, L.M., Rifkin, D., Lee, A.K., Tamura, M.K., Pajewski, N.M., Weiner, D.E., Al-Rousan T.S., Shlipak, M., Ix, J.H., 2021. Association of urine biomarkers of kidney tubule injury and dysfunction with frailty index and cognitive function in persons with CKD in SPRINT. *Am J Kidney Dis*, 78, 530-540. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2021.01.009>.
- 220) Minetto, M.A., Gazzoni, M., Lanfranco, F., Baldi, M., Saba, L., Pedrola, R., Komi, P.V., Rainoldi, A., 2007. Influence of the sample collection method on salivary interleukin-6 levels in resting and post-exercise conditions. *Eur. J. Appl. Physiol.* 101, 249–256. <https://doi.org/10.1007/s00421-007-0484-x>.
- 221) Mitnitski, A., Collerton, J., Martin-Ruiz, C., Jagger, C., Von Zglinicki, T., Rockwood, K., Kirkwood, T.B.L., 2015. Age-related frailty and its association with biological markers of ageing. *BMC Med.* 13 <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0400-x>.
- 222) Molina-Luque, R., Muñoz Díaz, B., Martínez de la Iglesia, J., Romero-Saldaña, M. & Molina-Recio, G. 2019. ¿Es válido el cribado nutricional de los ancianos a través del Mini Nutritional Assesment (MNA-SF) en su versión corta adaptada al castellano?. *Nutrición hospitalaria*, 36, 290-295. <https://dx.doi.org/10.20960/nh.2070>.
- 223) Montero-Odasso, M., Barnes, B., Speechley, M., Muir Hunter, S.W., Doherty, T.J., Duque, G., Gopaul, K., Sposato, L.A., Casas-Herrero, A., Borrie, M.J., Camicioli, R., Wells, J.L., 2016. Disentangling cognitive-frailty: results from the gait and brain study. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 71, 1476–1482. <https://doi.org/10.1093/gerona/glw044>.
- 224) Mooijaart, S.P., Sattar, N., Trompet, S., Lucke, J., Stott, D.J., Ford, I., Jukema, J.W., Westendorp, R.G.J., de Craen, A.J.M, 2013. Circulating interleukin-6 concentration and cognitive decline in old age: the PROSPER study. *J. Intern. Med.* 274, 77–85. <https://doi.org/10.1111/joim.12052>.
- 225) Moreno-Rodriguez, M., Perez, S.E., Nadeem, M., Malek-Ahmadi, M., Mufson, E.J. 2020. Frontal cortex chitinase and pentraxin neuroinflammatory alterations during the progression of Alzheimer’s disease. *J Neuroinflammation*, 17, 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-1723-x>.
- 226) Mori, H., Tokuda, Y, 2019. Differences and overlap between sarcopenia and physical frailty in older community-dwelling japanese. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 28, 157–165. [https://doi.org/10.6133/apjcn.201903\\_28\(1\).0021](https://doi.org/10.6133/apjcn.201903_28(1).0021).
- 227) Mortensen, R.F., Zhong, W. 2000. Regulation of phagocytic leukocyte activities by C-reactive protein. *J. Leukoc. Bio.* 167, 495–500. <https://doi.org/10.1002/jlb.67.4.495>.
- 228) Munawara, U., Catanzaro, M., Xu, W., Tan, C., Hirokawa, K., Bosco, N., Larbi, A., Lévesque, S., Ramassamy, C., Barron, A.E., Cunnane, S., Beauregard, P.B., Bellenger, J.P., Rodrigues, S., Desroches, M., Witkowski, J.M., Laurent, B., Frost, E. H., Fulop, T., 2021. Hyperactivation of monocytes and macrophages in MCI patients contributes to the progression of Alzheimer’s disease. *Immun. Ageing* 18, 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12979-021-00236-x>.

- 229) Mussap, M. & Plebani, M. 2004. Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 41, 467-550. <https://doi.org/10.1080/10408360490504934>
- 230) Murman, D. L. 2015. The impact of age on cognition. In *Seminars in hearing*. 36, pp. 111-121. Thieme Medical Publishers. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1555115>.
- 231) Nam, Y., Kim, Y.Y., Chang, J.Y., Kho, H.S., 2019. Salivary biomarkers of inflammation and oxidative stress in healthy adults. *Arch. Oral Biol.* 97, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.10.026>.
- 232) Namioka, N., Hanyu, H., Hirose, D., Hatanaka, H., Sato, T., Shimizu, S., 2017. Oxidative stress and inflammation are associated with physical frailty in patients with Alzheimer’s disease. *Geriatr Gerontol Int* 17, 913–918. <https://doi.org/10.1111/ggi.12804>.
- 233) Naor, D., Sionov, R.V., Ish-Shalom, D. 1997. CD44: structure, function and association with the malignant process. *Adv Cancer Res* 71, 241-319. [https://doi.org/10.1016/s0065-230x\(08\)60101-3](https://doi.org/10.1016/s0065-230x(08)60101-3).
- 234) Narici, M.V., Maganaris, M.V., Reeves, C.N., Capodaglio, N.D.P., 2003. Effect of aging on human muscle architecture. *J. Appl. Physiol.* 95, 2229–2234. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00433.2003>.
- 235) Nelson, G., Wordsworth, J., Wang, C., Jurk, D., Lawless, C., Martin-Ruiz, C., von Zglinicki, T., 2012. A senescent cell bystander effect: senescence-induced senescence. *Aging cell*. 11, 345–349. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00795.x>.
- 236) Niccoli, T., Partridge, L., 2012. Ageing as a risk factor for disease. *Curr. Biol.* 22, 741–752. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2012.07.024>.
- 237) Niebla-Cárdenas, A., Bareke, H., Juanes-Velasco, P., Landeira-Viñuela, A., Hernández, Á. P., Montalvillo, E., Arroyo-Anlló, E., Puente-González A.S., Méndez-Sanchez, R., Fuentes, M. 2022. Translational research into frailty from bench to bedside: Salivary biomarkers for inflammaging. *Exp Gerontol* 112040. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2022.112040>.
- 238) Naruse, M., Shibasaki, K., Yokoyama, S., Kurachi, M., Ishizaki, Y. 2013. Dynamic changes of CD44 expression from progenitors to subpopulations of astrocytes and neurons in developing cerebellum. *PLoS One* 8:e53109. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053109>.
- 239) O’Brien, S.M., Scott, L.V., Dinan, T.G., 2006. Antidepressant therapy and C-reactive protein levels. *Br. J. Psychiatry* 188, 449–452. <https://doi.org/10.1192/bjp.bp.105.011015>.
- 240) O’Bryant, S.E., Waring, S.C., Hobson, V., Hall, J.R., Moore, C.B., Bottiglieri, T., Massman, P., Diaz-Arrastia, R., 2010. Decreased C-reactive protein levels in alzheimer disease. *J. Geriatr. Psychiatry Neurol.* 23, 49–53. <https://doi.org/10.1177/0891988709351832>.
- 241) O’Caoimh, R., Costello, M., Small, C., Spooner, L., Flannery, A., O’Reilly, L., Heffernan, L., Mannion, E., Maughan, A., Joyce, A., Molloy, D.A., O’Donnell, J., 2019. Comparison of frailty screening instruments in the emergency department. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 16, 3626. <https://doi.org/10.3390/ijerph16193626>.
- 242) O’Connor, A. & O’Moráin, C. 2014. Digestive function of the stomach. *Dig Dis* 32, 186-191. <https://doi.org/10.1159/000357848>.

- 243) Odden, M. C., Chertow, G. M., Fried, L. F., Newman, A. B., Connelly, S., Angleman, S., Harris, T.B., Simonsick, E.M., Shilpak, M.G., HABC Study. 2006. Cystatin C and measures of physical function in elderly adults: the Health, Aging, and Body Composition (HABC) Study. *Am J Epidemiol*, 164, 1180-1189. <https://doi.org/10.1093/aje/kwj333>.
- 244) Ohshiro, K., Rosenthal, D.I., Koomen, J.M., Streckfus, C.F., Chambers, M., Kobayashi, R., El-Naggar, A.K., 2007. Pre-analytic saliva processing affect proteomic results and biomarker screening of head and neck squamous carcinoma. *Int. J. Oncol.* 30, 743–749. <https://doi.org/10.3892/ijco.30.3.743>.
- 245) Oishi K., Ito-Dufros Y. 2006. Angiogenic potential of CD44+ CD90+ multipotent CNS stem cells *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 349, 1065–1072. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.08.135>.
- 246) Okuneva, O., Körber, I., Li, Z., Tian, L., Joensuu, T., Kopra, O., Lehesjoki, A.E. 2015. Abnormal microglial activation in the *Cstb*<sup>-/-</sup> mouse, a model for progressive myoclonus epilepsy, *EPM 1. Glia*, 63, 400-411. <https://doi.org/10.1002/glia.22760>.
- 247) Olmos-Martínez, J. O., Martínez García, J. M., González-Macías, J. 2007. Envejecimiento músculo-esquelético [Musculoskeletal aging]. *Revista española de enfermedades metabólicas óseas*, 16, 1-7.
- 248) Ordovas-Montanes, J.M., Ordovas, J.M., 2012. Cholesterol, inflammasomes, and atherogenesis. *Curr. Cardiovasc. Risk Rep.* 6, 45–52. <https://doi.org/10.1007/s12170-011-0212-2>.
- 249) Ouellet-Morin, I., Danese, A., Williams, B., Arseneault, L., 2011. Validation of a high-sensitivity assay for C-reactive protein in human saliva. *Brain Behav. Immun.* 25, 640–646. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.12.020>.
- 250) Ostir, G.V., Ottenbacher, K.J., Markides, K.S. 2004. Onset of frailty in older adults and the protective role of positive affect. *Psychol Aging*, 19, 402. <https://doi.org/10.1037/0882-7974.19.3.402>.
- 251) O'Rourke, M.F & Hashimoto, J. 2007. Mechanical factors in arterial aging: a clinical perspective. *J Am Coll Cardio* 50, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.12.050>.
- 252) Out, D., Hall, R.J., Granger, D.A., Page, G.G., Woods, S.J., 2012. Assessing salivary C-reactive protein: longitudinal associations with systemic inflammation and cardiovascular disease risk in women exposed to intimate partner violence. *Brain Behav. Immun.* 26, 543–551. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.01.019>.
- 253) Oyarzún, M. 2009. Función respiratoria en la senectud [Pulmonary function in aging]. *Revista médica de Chile*, 137,411-418.
- 254) Palmer, J., Pandit, V., Zeeshan, M., Kulvatunyou, N., Hamidi, M., Hanna, K., Fain, M., Nikolich-Zugich, J., Zakaria, E.R., Joseph, B., 2019. The acute inflammatory response after trauma is heightened by frailty: a prospective evaluation of inflammatory and endocrine system alterations in frailty. *J. Trauma Acute Care Surg.* 87, 54–60. <https://doi.org/10.1097/TA.0000000000002229>.
- 255) Pan, Y., Tong, T.J., Yun, L., Lina, M., 2020. Omics biomarkers for frailty in older adults. *Clin. Chim. Acta* 510, 363–372. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2020.07.057>.

- 256) Pansarasa, O., Pistono, C., Davin, A., Bordoni, M., Mimmi, M.C., Guaita, A., Cereda, C., 2019. Altered immune system in frailty: genetics and diet may influence inflammation. *Ageing Res. Rev.* 54 <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100935>.
- 257) Panza, F., Lozupone, M., Solfrizzi, V., Stallone, R., Bellomo, A., Greco, A., Daniele, A., Seripa, D., Logroscino, G., 2017. Cognitive frailty: a potential target for secondary prevention of dementia. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 13, 1023–1027. <https://doi.org/10.1080/17425255.2017.1372424>.
- 258) Pavanello, S., Stendardo, M., Mastrangelo, G., Bonci, M., Bottazzi, B., Campisi, M., Nardini, M., Leone, R., Mantovani, A., Boschetto, P., 2017. Inflammatory long pentraxin 3 is associated with leukocyte telomere length in night-shift workers. *Front. Immunol.* 8, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00516>.
- 259) Pawelec, G., 2018. Age and immunity: what is “immunosenescence”? *Exp. Gerontol.* 105, 4–9. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.10.024>.
- 260) Peng, J., Elias, J.E., Thoreen, C.C., Licklider, L.J., Gygi, S.P. 2003. Evaluation of multidimensional chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC/LC-MS/MS) for large-scale protein analysis: the yeast proteome. *J. Proteome Res.* 2, 43–50. <https://doi.org/10.1021/pr025556v>.
- 261) Pennacchio, L.A., Bouley, D.M., Higgins, K.M., Scott, M.P., Noebels, J.L., Myers, R.M. 1998. Progressive ataxia, myoclonic epilepsy and cerebellar apoptosis in cystatin B-deficient mice. *Nat Genet.* 20, 251–258. <https://doi.org/10.1038/3059>.
- 262) Pereiro Rozas, A. X., & Juncos Rabadán, O. 2000. Deterioro atencional en la vejez. *Rev. esp. geriatr. Gerontol.* 283–289.
- 263) Pérez Díaz, J., Abellán García, A., Aceituno Nieto, P., Ramiro Fariñas, D. 2020. Un perfil de las personas mayores en España, 2020. Indicadores estadísticos básicos. *Informes Envejecimiento en red no.* Madrid, 25, 39p. [Fecha de publicación: 12/03/2020].
- 264) Petersen, T.H., Willerslev-Olsen, M., Conway, B.A., Nielsen, J.B., 2012. The motor cortex drives the muscles during walking in human subjects. *J. Physiol.* 590, 2443–2452. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.227397>.
- 265) Petrus, E., Lee, H.K., 2014. BACE1 is necessary for experience-dependent homeostatic synaptic plasticity in visual cortex. *Neural Plast.* <https://doi.org/10.1155/2014/128631>.
- 266) Phillips, A., Gerald Shaper, A., Whincup, P.H. 1989. Association between serum albumin and mortality from cardiovascular disease, cancer, and other causes. *Lancet* 334, 1434–1436. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(89\)92042-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(89)92042-4).
- 267) Prasad, S., Tyagi, A.K., Aggarwal, B.B., 2016. Detection of inflammatory biomarkers in saliva and urine: potential in diagnosis, prevention, and treatment for chronic diseases. *Exp. Biol. Med.* 241, 783–799. <https://doi.org/10.1177/1535370216638770>.
- 268) Prenner, S.B., Kumar, A., Zhao, L., Cvijic, M.E., Basso, M., Spires, T., Li, Z., Yarde, M., Bhattacharya, P., Zamain P., Mazurek, J., Wang, Z., Seiffert, D., Gordon, D.A., Chirinos, J.A. 2020. Effect of serum albumin levels in patients with heart failure with preserved ejection fraction (from the TOPCAT trial). *Am J Car.* 125, 575–582. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2019.11.006>.

- 269) Ponta, H., Sherman, L., Herrlich, P.A. 2003. CD44: from adhesion molecules to signalling regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4, 33-45. <https://doi.org/10.1038/nrm1004>.
- 270) Posner, M. I., Rothbart, M. K., Sheese, B. E., Voelker, P. 2012. Control networks and neuromodulators of early development. *Dev Psychol*, 48, 827. <https://doi.org/10.1037/a0025530>.
- 271) Rabadán, O. J. 1994. Lenguaje y envejecimiento: Una aproximación cognitiva. *Cognitiva*, 6, 189-212.
- 272) Ramos A.B., 2019. Castilla y León, la región con más octogenarios y nonagenarios de Europa. *El Independiente*.
- 273) Rammos, C., Hendgen-Cotta, U. B., Pohl, J., Totzeck, M., Luedike, P., Schulze, V.T., Rassaf, T. 2014. Modulation of circulating macrophage migration inhibitory factor in the elderly. *BioMed Res Int*, <https://doi.org/10.1155/2014/582586>.
- 274) Recasens, M., López-Bermejo, A., Ricart, W., Vendrell, J., Casamitjana, R., Fernández- Real, J.M. 2005. An inflammation score is better associated with basal than stimulated surrogate indexes of insulin resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 112–116. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0708>.
- 275) Reimann, J., Schnell, S., Schwartz, S., Kappes-Horn, K., Dodel, R., Bacher, M. 2010. Macrophage migration inhibitory factor in normal human skeletal muscle and inflammatory myopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 69, 654-662. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181e10925>.
- 276) Robertson, D.A., Savva, G.M., Coen, R.F., Kenny, R.A. 2014. Cognitive function in the prefrailty and frailty syndrome. *J. Am. G. Soc.* 62, 2118–2124. <https://doi.org/10.1111/jgs.13111>.
- 277) Rockwood, K., Mitnitski, A. 2007. Frailty in relation to the accumulation of deficits. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 62, 722–727. <https://doi.org/10.1093/gerona/62.7.722>.
- 278) Rockwood, K., Fox, R.A., Stolee, P., Robertson, D., Beattie, B.L. 1994. Frailty in elderly people: an evolving concept. *CMAJ* 150, 489–495. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-6388-4>.
- 279) Rodríguez Pérez, J. C. 2011. El papel de los inhibidores de mTOR en las enfermedades renales. *Nefrología*. 31, 251-255.
- 280) Rodriguez-Roisin, R., Burgos, F., Roca, J., Barbera, J. A., Marrades, R. M., Wagner, P. D. 1999. Physiological changes in respiratory function associated with ageing. *Eur Respir J*. 14, 1454-1456. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.1999.13a36.x>.
- 281) Rodriguez-Torrado, R., Ruiz, P., Cueto-Felgueroso, L., Green, M. C., Friesen, T., Matringe, S., Togelius, J. 2022. Physics-informed attention-based neural network for hyperbolic partial differential equations: Application to the Buckley–Leverett problem. *Sci Rep* 12, 7557. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11058-2>.
- 282) Rosselli, M. 2015. Desarrollo neuropsicológico de las habilidades visoespaciales y visoconstruccionales. *Revista Neuropsicología, Neuropsiquiatría y Neurociencias*, 15, 175-200.

- 283) Rosso, A. L., Taylor, J A., Tabb, L.P., Michael, Y.L. 2013. Mobility, disability, and social engagement in older adults. *J Aging Health*, 25, 617-637. <https://doi.org/10.1177/0898264313482489>.
- 284) Rutenberg, A.D., Mitnitski, A.B., Farrell, S.G., Rockwood, K. 2018. Unifying aging and frailty through complex dynamical networks. *Exp. Gerontol.* 107, 126–129. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.08.027>.
- 285) Saedi, A.A., Feehan, J., Phu, S., Duque, G. 2019. Current and emerging biomarkers of frailty in the elderly. *Clin. Interv. Aging.* 14, 389–398. <https://doi.org/10.2147/CIA.S168687>.
- 286) Saitoh, E & Isemura, S. 1993. Molecular biology of human salivary cysteine proteinase inhibitors. *Crit Rev in Oral Biology & Medicine.* 4, 487-493. <https://doi.org/10.1177/10454411930040033301>.
- 287) Salthouse, T. A. 1996. The processing-speed theory of adult age differences in cognition. *Psychol Rev.* 103, 403–428. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.103.3.403>.
- 288) Salthouse, T. 2012. Consequences of age-related cognitive declines. *Annual Rev Psychol.* 63, 201-226. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-120710-100328>.
- 289) Salvioli, S., Monti, D., Lanzarini, C., Conte, M., Pirazzini, C., Giulia Bacalini, M., Garagnani, P., Giuliani, C., Fontanesi, E., Ostan, R., Bucci, L., Sevini, F., Yani, S.L., Barbieri, A., Lomartire, L., Borelli, V., Vianello, D., Bellavista, E., Martucci, M., Cevenini, E., Pini, E., Scurti, M., Biondi, F., Santoro, A., Capri, M., Franceschi, C. 2013. Immune system, cell senescence, aging and longevity - inflamm-aging reappraised. *Curr. Pharm. Des.* 19, 1675–1679. <https://doi.org/10.2174/138161213805219531>.
- 290) Sarnak, M.J., Katz, R., Fried, L.F., Siscovick, D., Kestenbaum, B., Seliger, S., Shlipak, M.G., Rifkin, D., Tracy, R., Newman, A.B., Shlipak, M.G. 2008. Cystatin C and aging success. *Arch Intern Med*, 168, 147-153. <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2007.40>.
- 291) Schipper, R., Loof, A., De Groot, J., Harthoorn, L., Van Heerde, W., Dransfield, E. 2007. Salivary protein/peptide profiling with SELDI-TOF-MS. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1098, 498–503. <https://doi.org/10.1196/annals.1384.010>.
- 292) Scheppach, J.B, Coresh, J, Wu, A., Gottesman, R.F., Mosley, T.H., Knopman, D.S., Grams, M.E., Sharrett, A.R., Koton, S. 2012. Albuminuria and Estimated GFR as Risk Factors for Dementia in Midlife and Older Age: Findings From the ARIC Study. *Am J Kidney Dis*; 76. 775–783. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2020.03.015>.
- 293) Schöttker, B., Herder, C., Rothenbacher, D., Roden, M., Kolb, H., Müller, H., Brenner, H. 2013. Proinflammatory cytokines, adiponectin, and increased risk of primary cardiovascular events in diabetic patients with or without renal dysfunction: results from the ESTHER study. *Diabetes Care*, 36, 1703-1711. <https://doi.org/10.2337/dc12-1416>.
- 294) Schulte, T., Sullivan, E. V., Müller-Oehring, E. M., Adalsteinsson, E. & Pfefferbaum, A. 2005. Corpus callosal microstructural integrity influences interhemispheric processing: a diffusion tensor imaging study. *Cereb Cortex*, 15, 1384-1392. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhi020>.
- 295) Schwartz, S.S., Zhu, W.X., Sreebny, L.M. 1995. Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel. *Arch. Oral Biol.* 40, 949–958. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(95\)00055](https://doi.org/10.1016/0003-9969(95)00055).

- 296) Semba, R.D., Margolick, J.B., Leng, S., Walston, J., Ricks, M.O., Fried, L.P., 2005. T cell subsets and mortality in older community-dwelling women. *Exp. Gerontol.* 40, 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2004.09.006>.
- 297) Seo, Y.K., Won, C.W., Soh, Y. 2021. Associations between body composition and cognitive function in an elderly Korean population: a cohort-based cross-sectional study. *Medicine* 100. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000025027>.
- 298) Sergi, G., Veronese, N., Fontana, L., De Rui, M., Bolzetta, F., Zambon, S., Corti, M.C., Baggio, G., Toffanello, E.D., Crepaldi, G., Perissinotto, E., Manzato, E. 2015. Pre-frailty and risk of cardiovascular disease in elderly men and women: the PRO.V.A. study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 65, 976–983. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.12.040>.
- 299) Serre-Beinier, V., Toso, C., Morel, P., Gonelle-Gispert, C., Veyrat-Durebex, C., Rohner-Jeanraud, F., Caldra, T., Roger, T., James, R.W., Montet, X., Buhler, L., Bosco, D., Berney, T. 2010. Macrophage migration inhibitory factor deficiency leads to age-dependent impairment of glucose homeostasis in mice. *J Endocrinol.* 206, 297. <https://doi.org/10.1677/JOE-09-0342>.
- 300) Shinkai S., Kumagai S., Fujiwara, A., Amano H., Yoshida Y., Watanabe S., Ishizaki T., Suzuki T., Shibata H. 2003 Predictors for the onset of functional decline among initially non-disabled older people living in a community during a 6-year follow-up. *Geriatr Gerontol Int.* 3: S31-S39. <https://doi.org/10.1111/j.1444-0594.2003.00094.x>.
- 301) Shlipak, M. G., Sarnak, M. J., Katz, R., Fried, L., Seliger, S., Newman, A., Siscovick, D., Stehman-Breen, C. Psaty, B.M., Sarnack, M.J. 2005. Cystatin-C and mortality in elderly persons with heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 45, 268-271. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.09.061>.
- 302) Shoemark, H., Hanson-Abromeit, D., Stewart, L. 2015. Constructing optimal experience for the hospitalized newborn through neuro-based music therapy. *Front. Hum. Neurosci.* 9, 1–5. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2015.00487>.
- 303) Shlipak, M. G., Sarnak, M. J., Katz, R., Fried, L., Seliger, S., Newman, A., Siscovick, D., Stehman-Breen, C. Psaty, B.M., Sarnack, M.J. 2005. Cystatin-C and mortality in elderly persons with heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 45, 268-271. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.09.061>.
- 304) Short, K. R., Bigelow, M. L., Kahl, J., Singh, R., Coenen-Schimke, J., Raghavakaimal, S., Nair, K. S. 2005. Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proc Natl Acad Sci.* 102, 5618-5623. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501559102>.
- 305) Shoubridge, E.A. 2001. Cytochrome c oxidase deficiency. *Am J Med Genet A*, 106, 46-52. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1378>.
- 306) Sierra, C. 2017. La hipertensión arterial en el anciano. *Hipertensión y riesgo vascular*, 34, 26-29.
- 307) Sjogren, E., Leanderson, P., Kristenson, M., 2006. Diurnal saliva cortisol levels and relations to psychosocial factors in a population sample of middle-aged Swedish men and women. *Int. J. Behav. Med.* 13, 193–200. [https://doi.org/10.1207/s15327558ijbm1303\\_2](https://doi.org/10.1207/s15327558ijbm1303_2).

- 308) Slade, G.D., Ghezzi, E.M., Heiss, G., Beck, J.D., Riche, E., Offenbacher, S., 2003. Relationship between periodontal disease and C-reactive protein among adults in the atherosclerosis risk in communities study. *Arch. Intern. Med.* 163, 1172–1179. <https://doi.org/10.1001/archinte.163.10.1172>.
- 309) Slavish, D.C., Graham-Engeland, J.E., Smyth, J.M., Engeland, C.G., 2015. Salivary markers of inflammation in response to acute stress. *Brain Behav. Immun.* 44 <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.08.008>.
- 310) Slowey, P.D., 2015. Saliva Collection Devices and Diagnostic Platforms. In: Streckfus, C. F. (Ed.), *Advances in Salivary Diagnostics*. Springer, USA, pp. 33–61. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-45399-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-662-45399-5_3).
- 311) Smith, G., Avenell, A., Band, M.M., Hampson, G., Lamb, E.J., Littleford, R.C., McNamee, P., Soiza, R.L., Sumukadas, D., Witham, M.D. 2021. Associations between frailty, physical performance, and renal biomarkers in older people with advanced chronic kidney disease. *Eur Geriatr Med*, 12, 943-952. <https://doi.org/10.1007/s41999-021-00478-4>.
- 312) Soysal, P., Stubbs, B., Lucato, P., Luchini, C., Solmi, M., Peluso, R., Sergi, G., Isik, A.T., Manzato, E., Maggi, S., Maggio, M., Prina, A.M., Casco, T.D., Wu, Y., Veronese, N. 2016. Inflammation and frailty in the elderly: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res. Rev.* 31, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2016.08.006>.
- 313) Sretavan, D.W., Feng, L., Pure, E., & Reichardt, L.F. 1994. Embryonic neurons of the developing optic chiasm express L1 and CD44, cell surface molecules with opposing effects on retinal axon growth. *Neuron*, 12, 957-975. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90307-7](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90307-7).
- 314) Staessen, J.A., Gasowski, J., Wang, J.G., Thijs, L., Den Hond, E., Boissel, J.P., Coope, J., Ekblom, T., Gueyffier, F., Liu, L., Kerlikowske, K., Pocock, S., Fagard, R.H., 2000. Risks of untreated and treated isolated systolic hypertension in the elderly: meta-analysis of outcome trials. *Lancet* 355, 865–872. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)07330-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)07330-4).
- 315) Stattin, K., Lind, L., Elmståhl, S., Wolk, A., Lemming, E. W., Melhus, H., Michelsson, K., Byberg, L. 2019. Physical activity is associated with a large number of cardiovascular-specific proteins: Cross-sectional analyses in two independent cohorts. *Eur J Prev Cardiol*, 26, 1865-1873. <https://doi.org/doi:10.1177/2047487319868033>.
- 316) Soenen, S., Rayner, C. K., Jones, K. L., Horowitz, M. 2016. The ageing gastrointestinal tract. *Curr Opin Clin Nutri Metab Care*, 19.12-18. <https://doi.org/10.1097/mco.000000000000238>.
- 317) Sretavan, D.W., Feng, L., Pure, E., Reichardt, L.F. 1994. Embryonic neurons of the developing optic chiasm express L1 and CD44, cell surface molecules with opposing effects on retinal axon growth. *Neuron*, 12, 957-975. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(94\)90307-7](https://doi.org/10.1016/0896-6273(94)90307-7).
- 318) Stevens, L.A., Nolin, T.D., Richardson, M.M., Feldman, H.I., Lewis, J.B., Rodby, R., Townsend, R., Okparavero, A., Zhang, Y.L., Schmid, C.H., Levey, A.S., Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration. 2009. Comparison of drug dosing recommendations based on measured GFR and kidney function estimating equations. *Am J Kidney Dis.* 54, 33-42. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2009.03.008>.



- 319) Stoner, L., Lucero, A.A., Palmer, B.R., Jones, L.M., Young, J.M., Faulkner, J., 2013. Inflammatory biomarkers for predicting cardiovascular disease. *Clin. Biochem.* 46, 1353–1371. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2013.05.070>.
- 320) Tegelberg, Å., Wilhelmsson, B., Erixon-Lindroth, N., Lindström, L.H. 2012. Improved cognitive functions after treatment with an oral appliance in obstructive sleep apnea. *Nat Sci Sleep*, 89-96. <https://doi.org/10.2147/NSS.S33849>.
- 321) Thoma, S.K., Motivala, S., Olmstead, R., Irwin, M.R., 2011. Sleep depth and fatigue: role of cellular inflammatory activation. *Brain Behav. Immun.* 25, 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2010.07.245>.
- 322) Thomas, R., Wang, W., Su, D.M., 2020. Contributions of age-related thymic involution to immunosenescence and inflammaging. *Immun. Ageing* 17, 1–17. <https://doi.org/10.1186/s12979-020-0173-8>.
- 323) Tilg, H., Trehu, E., Atkins, M.B., Dinarello, C.A., Mier, J.W., 1994. Interleukin-6 (IL-6) as an anti-inflammatory cytokine: induction of circulating IL-1 receptor antagonist and soluble tumor necrosis factor receptor p55. *Blood* 83, 113–118. <https://doi.org/10.1182/blood.v83.1.113.bloodjournal831113>.
- 324) Tomlinson, B. E., & Irving, D. 1977. The numbers of limb motor neurons in the human lumbosacral cord throughout life. *J Neurol Sci* 34.213-219. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(77\)90069-7](https://doi.org/10.1016/0022-510x(77)90069-7).
- 325) Triana, B.E.G., Soto, O.D., Espina, A.M.L., Bernabeu, A.S. 2012. Principales proteínas salivales: estructura, función y mecanismos de acción. [Salivary proteins: structure, function and mechanisms of action] *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 11, 450-456.
- 326) Vandanmagsar, B., Youm, Y.H., Ravussin, A., Galgani, J.E., Stadler, K., Mynatt, R.L., Ravussin, E., Stephens, J.M., Dixit, V.D., 2011. The NLRP3 inflammasome instigates obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Nat. Med.* 17, 179–189. <https://doi.org/10.1038/nm.2279>.
- 327) Varela-Eirín, M., Varela-Vázquez, A., Blanco, A., Caeiro, J. R., Mayán, M.D. 2019. Regulación de la plasticidad celular y senescencia en condrocitos articulares: conexina 43 como diana terapéutica para el tratamiento de la artrosis. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 11, 46-54. <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2019000300003>.
- 328) Ventura, M.T., Casciaro, M., Gangemi, S., Buquicchio, R., 2017. Immunosenescence in aging: between immune cells depletion and cytokines up-regulation. *Clin. Mol. Allergy* 15, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12948-017-0077-0>.
- 329) Veronese, N., Siggeirsdottir, K., Eiriksdottir, G., Marques, E.A., Chalhoub, D., Phillips, C. L., Launer, L.J., Maggi, S., Gudnason, V., Harris, T.B., 2017. Frailty and risk of cardiovascular diseases in older persons: the age, gene/environment susceptibility- Reykjavik study. *Rejuven. Res.* 20, 517–524. <https://doi.org/10.1089/rej.2016.1905>.
- 330) Veronese, N., Stubbs, B., Noale, M., Solmi, M., Luchini, C., Smith, T.O., Cooper, C., Gugliemi, G., Reginster, J.Y., Rizzoli, R., Maggi, S., 2017. Adherence to a Mediterranean diet is associated with lower prevalence of osteoarthritis: data from the osteoarthritis initiative Nicola. *Clin. Nutr.* 36, 1609–1614. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39414-9>.

- 331) Volanakis, J.E., 2001. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol. Immunol.* 38, 189–197. [https://doi.org/10.1016/s0161-5890\(01\)00042-6](https://doi.org/10.1016/s0161-5890(01)00042-6).
- 332) Vrancken, A. F., Kalmijn, S., Brugman, F., Rinkel, G. J., Notermans, N. C. 2006. The meaning of distal sensory loss and absent ankle reflexes in relation to age: A meta-analysis. *J Neurol*, 253, 578-589. <https://doi.org/10.1007/s00415-005-0064-0>.
- 333) Walston, J., McBurnie, M.A., Newman, A., Tracy, R.P., Kop, W.J., Hirsch, C.H., Gottdiener, J., Fried, L.P., Cardiovascular Health Study, 2002. Frailty and activation of inflammatory and coagulation systems with and without clinical comorbidities: results from the Cardiovascular Health Study. *Arch. Intern. Med.* 162, 2333–2341. <https://doi.org/10.1001/archinte.162.20.2333>.
- 334) Walston, J., Hadley, E.C., Ferrucci, L., Guralnik, J.M., Newman, A.B., Studenski, S.A., Ershler, W.B., Harris, T., Fried, L.P., 2006. 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.* 54, 991–1001. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2006.00745.x>.
- 335) Walters, S., Khan, T., Ong, T., Sahota, O., 2017. Fracture liaison services: improving outcomes for patients with osteoporosis. *Clin. Interv. Aging* 12, 117–127. <https://doi.org/10.2147/CIA.S85551>.
- 336) Wang, S., Wang, C., Liu, O., Hu, Y., Li, X., Lin, B. 2021. Prognostic value of immune-related cells and genes in the tumor microenvironment of ovarian cancer, especially CST4. *Life Sci*, 277, 119461. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119461>.
- 337) Wang, J., Di, X., Xin, W., Zhou, C., Hui, W., Yan, G., Cao, K., 2011. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in myocardial infarction: a meta-analysis. *Heart*. 97, 1542–1546. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2011-300342>.
- 338) Watson, G.S. & Leverenz, J.B. 2010. Profile of cognitive impairment in Parkinson's disease. *Brain Pathol*, 20, 640-645. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2010.00373.x>.
- 339) Weisberg, S.P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R.L., Ferrante, A.W., 2003. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J. Clin. Invest.* 112, 1796–1808. <https://doi.org/10.1172/JCI200319246>.
- 340) WHO Europe, 2020. Healthy ageing - Demographic trends, statistics and data on ageing. <https://www.euro.who.int/en/health-topics/Life-stages/healthy-ageing/data-and-statistics/demographic-trends,-statistics-and-data-on-ageing/> [Accessed 16 March 2021].
- 341) WHO, 2021. Obesidad y Sobrepeso. <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>[Accessed 12 June 2023].
- 342) Wikby, A., Ferguson, F., Forsey, R., Thompson, J., Strindhall, J., L'ofgren, S., Bengt- Olof, N., Ernerudh, J., Pawelec, G., Johansson, B., 2005. An immune risk phenotype, cognitive impairment, and survival in very late life: impact of allostatic load in swedish octogenarian and nonagenarian humans. *J. Gerontol. A Bio Sci. Med. Sci.* 60, 556–565. <https://doi.org/10.1093/gerona/60.5.556>.

- 343) Wilson, D., Jackson, T., Sapey, E., Lord, J.M., 2017. Frailty and sarcopenia: the potential role of an aged immune system. *Ageing Res. Rev.* 36, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2017.01.006>.
- 344) Wisdom, N. M., Mignogna, J., Collins, R. L. 2012. Variability in Wechsler Adult Intelligence Scale-IV subtest performance across age. *Arch Clin Neuropsychol* 27, 389-397. <https://doi.org/10.1093/arclin/acs041>.
- 345) Włodarczyk, M., Druszczyńska, M., Fol, M. 2019. Trained innate immunity not always amicable. *Int J Mol Sci.* 20, 2565. <https://doi.org/10.3390/ijms20102565>.
- 346) Wysokiński, A., Sobów, T., Kłoszewska, I., Kostka, T. Mechanisms of the anorexia of aging—a review. *Age*, 37, 81. <https://doi.org/10.1007/s11357-015-9821-x>.
- 347) Xiao, H., Wong, D.T.W., 2012. Method development for proteome stabilization in human saliva. *Anal. Chim. Acta* 722, 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.02.017>.
- 348) Xiu, F., Stanojic, M., Jeschke, M.G., 2013. Norepinephrine inhibits macrophage migration by decreasing CCR2 expression. *PLoS ONE* 8, 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069167>.
- 349) Xue, W., Zender, L., Miething, C., Dickins, R.A., Hernando, E., Krizhanovsky, V., Cordon-Cardo, C., Lowe, S.W. 2007. Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature*, 445, 656-660. <https://doi.org/10.1038/nature05529>.
- 350) Yalcin, S., Ulas, T., Eren, M.A., Aydogan, H., Camuzcuoglu, A., Kucuk, A., Yuce, H.H., Demir, M.E., Vural, M., Aksoy, N. Relationship between oxidative stress parameters and cystatin C levels in patients with severe preeclampsia. *Medicina (Kaunas)*. 2013. 49:118–23. <https://doi.org/10.3390/medicina49030019>.
- 351) Yaffe, K., Lindquist, K., Shlipak, M. G., Simonsick, E., Fried, L., Rosano, C., Satterfield, S., Atkinson, B., Windham, B.G., Kurella-Tamura, M. 2008. Cystatin C as a marker of cognitive function in elders: findings from the health ABC study. *Ann Neurol.* 63, 798-802. <https://doi.org/10.1002/ana.21383>.
- 352) Yan, W., Apweiler, R., Balgley, B.M., Boontheung, P., Bundy, J.L., Cargile, B.J., Cole, S., Fang, X., Gonzalez-Begne, M., Griffin, T.J., Hagen, F., Hu, S., Wolinsky, L.E., Lee, C. S., Malamud, D., Melvin, J.E., Menon, R., Mueller, M., Qiao, R., Rhodus, N.L., Sevinsky, J.R., States, D., Stephenson, J.L., Than, S., Yates, J.R., Yu, W., Xie, H., Xie, Y., Omenn, G.S., Loo, J.A., Wong, D.T., 2009. Systematic comparison of the human saliva and plasma proteomes. *Proteomics. Clin Appl* 3, 116–134. <https://doi.org/10.1002/prca.200800140>.
- 353) Yanagita, I., Fujihara, Y., Iwaya, C., Kitajima, Y., Tajima, M., Honda, M., Teruya, Y., Asakawa, H., Ito, T., Eda, T., Yamaguchi, N., Kayashima, Y., Yoshimoto, M., Harada, M., Yoshimoto, S., Aida, E., Yanase, T., Nawata, H., Muta, K. 2020. Low serum albumin, aspartate aminotransferase, and body mass are risk factors for frailty in elderly people with diabetes—a cross-sectional study. *BMC Geriatr.* 20, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12877-020-01601-z>.

- 354) Yano, Y., Matsuda, S., Hatakeyama, K., Sato, Y., Imamura, T., Shimada, K., Kodama, T., Kario, K., Asada, Y. 2010. Plasma pentraxin 3, but not high-sensitivity c-reactive protein, is a useful inflammatory biomarker for predicting cognitive impairment in elderly hypertensive patients. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 65, 547–552. <https://doi.org/10.1093/gerona/glq030>.
- 355) Yin, M.J., Xiong, Y.Z., Xu, X.J., Huang, L.F., Zhang, Y., Wang, X.J., Xiu, L.C., Huang, J.X., Lian, T.Y., Liang, D.M., Zen, J.M., Ni, J.D. 2020. Tfh cell subset biomarkers and inflammatory markers are associated with frailty status and frailty subtypes in the community-dwelling older population: a cross-sectional study. *Aging* 12, 2952–2973. <https://doi.org/10.18632/aging.102789>.
- 356) Yoshida, T., Matsuda, Y., Naito, Z., Ishiwata, T. 2012. CD44 in human glioma correlates with histopathological grade and cell migration. *Pathol Int*, 62, 463-470. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2012.02823.x>.
- 357) Zhang, H., Liu, T., Zhang, Z., Payne, S.H., Zhang, B., McDermott, J.E., Townsend, R.R. 2016. Integrated proteogenomic characterization of human high-grade serous ovarian cancer. *Cell*, 166, 755-765. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.05.069>.
- 358) Zhao, Y., Jaber, V., Lukiw, W.J., 2017. Secretory products of the human GI tract microbiome and their potential impact on Alzheimer’s disease (AD): detection of lipopolysaccharide (LPS) in AD hippocampus. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 7, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2017.00318>.
- 359) Zuliani, G., Soavi, C., Maggio, M., De Vita, F., Cherubini, A., Volpato, S. 2015. Counteracting inflammation and insulin resistance with diet and exercise: A strategy for frailty prevention?. *Eur Geriatr Med*, 6, 220-231. <https://doi.org/10.1016/j.eurger.2014.11.010>.