

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

Perfiles genéticos de longevidad y envejecimiento saludable en nonagenarios del País Vasco[☆]

Xabier Elcoroaristizabal Martín^a, Fernando Gómez Busto^b, Iñaki Artaza Artabe^c, Julia Barroso Niso^d, Javier Goicoechea Boyer^e, Víctor Ortiz de Murua García de Vicuña^b y Marian Martínez de Pancorbo^{a,*}

^a Grupo de Investigación BIOMICS, Departamento de Z. y Biología Celular A, Centro de Investigación y Estudios Avanzados – CIEA «Lucio Lascaray», Universidad del País Vasco UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz, Álava, España

^b Centro de Atención Integral a Personas Mayores San Prudencio, Vitoria-Gasteiz, Álava, España

^c Residencia y Unidad Sociosanitaria Orue, Amorebieta, Vizcaya, España

^d Servicio de Medicina Interna, Hospital Txagorritxu, Vitoria-Gasteiz, Álava, España

^e Santa y Real Casa de Misericordia de Bilbao, Bilbao, Bizkaia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 30 de diciembre de 2010

Aceptado el 14 de abril de 2011

On-line el 8 junio 2011

Palabras clave:

Longevidad

SNP

Envejecimiento

R E S U M E N

Introducción: En la actualidad existen notables diferencias en el envejecimiento de los individuos de las poblaciones modernas. Mientras que algunos de ellos disfrutan de un prolongado envejecimiento saludable, otros desarrollan enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer (EA). Los factores ambientales son decisivos en este hecho, pero la genética puede contribuir a explicar las diferencias observadas. Recientemente se ha postulado que los genes de la longevidad podrían ser también neuroprotectores.

Objetivos: Evaluar si determinadas variantes genéticas relacionadas con la longevidad pueden tener un carácter neuroprotector.

Métodos: Los sujetos a estudio son las personas con una edad superior a 90 años. De cada participante se realizará la recogida de datos sociodemográficos, clínicos y múltiples valoraciones: cognitiva, funcional, antropométrica, nutricional, sensorial y física. Además, se realizará el análisis de 64 loci SNPs, distribuidos en 13 genes candidatos *FOXO3*, *SIRT1*, *TOMM40*, *APOE*, *PICALM*, *COMT*, *CETP*, *CLU*, *CR1*, *IL-6*, *PCK-1*, *ZNF224* y *ACE* mediante Taqman array.

Resultados: Obtener un mayor conocimiento sobre los alelos infra/sobre representados en las personas nonagenarias. Además, la comparación de las características genéticas de los nonagenarios con EA con aquellos libres de enfermedad permitirá observar vinculaciones entre determinados alelos con la protección o el riesgo de EA.

La información asociada de los participantes permitirá crear subgrupos mostrando las interacciones entre el ambiente y las variaciones genéticas en relación al envejecimiento saludable y la EA.

Conclusión: El estudio de la variabilidad genética de las personas nonagenarias nos puede dar información sobre los alelos relacionados con la longevidad y la neuroprotección.

© 2010 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Genetic profiles of longevity and healthy cognitive aging in nonagenarians from the Basque Country

A B S T R A C T

Introduction: Currently there are notable differences in the aging of individuals in modern populations. While some of them enjoy a long healthy aging, others develop neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease (AD). Environmental factors are critical, but genetics could explain the differences observed. It has recently been postulated that longevity genes might also be neuroprotective.

Objectives: To assess whether certain genetic variants associated with longevity might have a neuroprotective effect.

Keywords:

Longevity

SNP

Aging

[☆] Este estudio está siendo financiado por el Departamento de Sanidad y Consumo del Gobierno Vasco (2009111083).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: marianpancorbo@gmail.com (M. Martínez de Pancorbo).

Methods: The subjects of this study are people older than 90 years. We will collect sociodemographic and clinical data and multiple assessments, cognitive, functional, anthropometric, nutritional, sensory and physical each participant. In addition, 64 SNPs loci distributed in 13 candidate genes *FOXO3*, *SIRT1*, *TOMM40*, *APOE*, *PICALM*, *COMT*, *CETP*, *CLU*, *CR1*, *IL-6*, *PCK-1*, *ZNF224* and *ACE* will be analysed by Taqman array.

Results: It is hoped to gain more knowledge about under/over-represented alleles in nonagenarians. Furthermore, comparison of the genetic characteristics of nonagenarians with AD with those free of disease will enable links to be seen between certain alleles with protection or the risk of AD. Associated information on the participants will create subgroups showing the interactions between environment and genetic variation in relation to healthy aging and AD.

Conclusion: The study of the genetic variability of nonagenarians can give us information on the alleles associated with longevity and neuroprotection.

© 2010 SEGG. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

El importante desarrollo de las sociedades occidentales ha propiciado el envejecimiento de la población. En contrapartida, este hecho está relacionado con el incremento de la incidencia de las enfermedades neurodegenerativas, lo que origina un importante impacto social y económico.

Sin embargo, esta realidad afecta de forma desigual a los individuos que componen las sociedades modernas. Mientras algunos disfrutan de una longevidad acompañada de un envejecimiento saludable, con sus capacidades físicas y cognitivas conservadas, otros en mayor o menor medida, sufren un deterioro físico y enfermedades neurodegenerativas que condicionan el envejecimiento, produciendo discapacidad y acortando la supervivencia.

El componente ambiental parece tener un papel importante en la longevidad, pero resulta insuficiente para explicar las diferencias entre los individuos que envejecen en un entorno común. Estas diferencias obedecen a múltiples factores (hábitos de vida, enfermedades, situación económica, accidentes, etc.) entre los que la genética contribuye a explicar el 15-30% de nuestra supervivencia y envejecimiento¹⁻⁴. La influencia de los factores genéticos es aún mayor en el último tercio de la vida (pasados los 60 años de edad)⁵ y en algunos aspectos relevantes del envejecimiento como el rendimiento físico, la función cognitiva y el envejecimiento óseo¹⁻¹⁰.

A lo largo de la última década se han realizado importantes avances sobre la relación existente entre la genética y la longevidad. Las investigaciones realizadas en organismos modelo han permitido asociar genes candidatos con rutas biológicas vinculadas a la longevidad. Por una parte, los trabajos en invertebrados son diversos, aunque el organismo que más ha aportado al conocimiento del envejecimiento, la longevidad y los procesos de reparación del ADN es *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*)¹¹⁻¹³. Igualmente, los trabajos realizados en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster*) son destacables, habiéndose encontrado nexos con *C. elegans*. Así, se ha podido observar que los factores de crecimiento de insulina tipo 1 (IGF-1) y la influencia del estrés oxidativo afectan de forma determinante a la longevidad¹⁴⁻¹⁸. Con el objetivo de intentar crear un puente entre el hombre y los invertebrados se ha estudiado el ratón como modelo de envejecimiento, y algunos de los datos obtenidos parecen ser correlativos a los reflejados en lo estudios de *C. elegans* y *D. melanogaster*¹⁶. Estos estudios en diferentes modelos de envejecimiento, han puesto de manifiesto la existencia de genes homólogos entre humanos y animales, por lo que su estudio tiene el potencial para proporcionar información sobre la longevidad¹⁹⁻²¹, en lo que parece un cruce entre los mecanismos de regulación de la vía de señalización Ins/IGF-1 (insulina/factor de crecimiento de insulina tipo 1) y la regulación de las vías de señalización de las especies oxígeno reactivas (ROS)^{22,23}.

Las tecnologías de genotipado masivo, los estudios de asociación de genoma completo (*Genome Wide Association Studies* [GWAS])

desarrolladas en los últimos años, han supuesto un gran avance en el análisis de la relación existente entre los polimorfismos encontrados en todo el genoma y la prolongación de la vida humana. Varias publicaciones recogen los metaanálisis realizados con estos estudios sin haber encontrado una asociación significativa de ningún gen con la longevidad²⁴⁻²⁶.

Sin embargo, Sebastiani et al publican en 2010 un trabajo no incluido en los metaanálisis anteriores, ofreciendo datos diferentes. Tras estudiar el genoma de 1.055 centenarios y 1.267 controles, encuentran 150 polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) relacionados con la longevidad y con la supuesta capacidad para predecirla²⁷, aunque estos resultados deben ser replicados en poblaciones diferentes.

Respecto a las enfermedades neurodegenerativas, destaca el incremento de la incidencia de la enfermedad de Alzheimer (EA) al aumentar la edad. Las formas familiares están vinculadas con alteraciones en la proteína precursora de amiloide (*APP*), presenilina 1 (*PSEN1*) y presenilina 2 (*PSEN2*), como han recogido múltiples trabajos realizados en la última década. La vinculación entre ciertos genes y EA esporádica queda recogida en la website Alzgene, en forma de metaanálisis de la mayoría de los trabajos publicados hasta la fecha en relación a la EA, inclusive los últimos GWAS. Como resultado de estos análisis, la website propone una lista, encabezada por el gen *APOE*²⁸.

Sanders et al (2010) han propuesto recientemente la hipótesis de que las variantes génicas que tienen una vinculación con la longevidad guardan una relación con la neuroprotección²⁹. Sería posible, por tanto, que las personas longevas sin EA sean portadoras de ciertas variantes génicas de longevidad y de neuroprotección, no presentes en longevos con Alzheimer.

Con el objetivo de evaluar que variaciones genéticas pueden estar relacionadas con la longevidad y las enfermedades neurodegenerativas, particularmente la EA, hemos realizado, en primer lugar, una selección de 13 genes candidatos a partir de la literatura. Así, se han incluido genes relacionados con la regulación transcripcional (*FOXO3* [Gen ID: 2309] y *SIRT1* [Gen ID: 23411]), el movimiento de proteínas al interior de la mitocondria (*TOMM40* [Gen ID: 10452]), el transporte de lípidos (*APOE* [Gen ID: 348], *CETP* [Gen ID: 1071] y *CLU* [Gen ID: 1191]), endocitosis (*PICALM* [Gen ID: 8301]), metabolismo de neurotransmisor (*COMT* [Gen ID: 1312]), respuesta inmune (*CR1* [Gen ID: 1378] e *IL-6* [Gen ID: 3569]), metabolismo glucosa (*PCK-1* [Gen ID: 5105] y *ZNF224* [Gen ID: 7767]), vasoconstricción (*ACE* [Gen ID: 1636]).

Estos genes están interconectados funcionalmente con la longevidad, la EA o con ambas, como se señala en la figura 1.

FOXO3, es regulado por *SIRT-1* como respuesta al estrés oxidativo, lo que incrementa la capacidad de *FOXO3* para detener el ciclo celular y aumentar la resistencia al estrés oxidativo, así como la inhibición de inducir la apoptosis³⁰. Polimorfismos en *TOMM40* parecen estar condicionando la edad de inicio de la EA, independientemente del alelo 4 de riesgo de *APOE* (*APOEε4*), el mayor factor de riesgo para la EA esporádica^{31,32}. *APOE* está

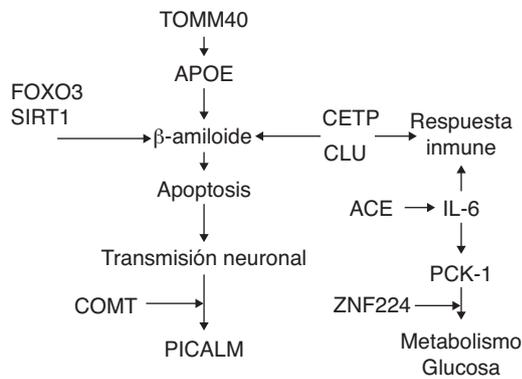


Figura 1. Interconexión funcional de los genes estudiados.

relacionado con un mayor depósito de placa de beta-amiloide y deterioro de los mecanismos de reparación^{33,34}, mientras que *SIRT-1* parece estar relacionado con la supresión de la producción de beta-amiloide y la neuroprotección^{35,36}, por lo que tienen efectos opuestos sobre la apoptosis. La apoptosis neuronal, la liberación y acción de neurotransmisores afecta a la transmisión de los estímulos nerviosos. *PICALM* está relacionado con el tráfico vesicular³⁷, esencial en la liberación de neurotransmisores como la dopamina que es degradada por la enzima codificada por *COMT*^{38,39}.

CETP y *CLU*, al igual que *APOE*, pueden interactuar con lípidos. *CETP* está relacionado con los niveles de HDL en plasma⁴⁰, mientras que *CLU* participa en el intercambio de lípidos entre las apolipoproteínas^{41,42}. Además, ha sido relacionado con la protección contra la toxicidad de beta-amiloide *in-vitro*, a diferencia de *APOE*, y la respuesta inmune al igual que *CR1* e *IL-6*⁴³⁻⁴⁵. *IL-6* está relacionado con la disminución de la expresión de *PCK1*, represión que afecta al metabolismo de la glucosa, al igual que hace *ZNF224*⁴⁶⁻⁵¹. La expresión de *IL-6* parece estar condicionada en algunos casos por la acción proinflamatoria de *ACE*⁵²⁻⁵⁴.

En segundo lugar, con objeto de caracterizar el grado de variación genética en estos genes, se ha establecido un conjunto de SNPs representativos de una región del genoma con alto desequilibrio de ligamiento (tagSNPs) que incorpora la información genética poblacional extraída del proyecto HapMap⁵⁵, así como las variantes descubiertas que parecen relacionarse con la longevidad y demencia, que recogemos en la [tabla 1](#).

Objetivo general

Búsqueda de factores genéticos relacionados con la longevidad y la neuroprotección.

Objetivos específicos

Para alcanzar este objetivo general se proponen los siguientes objetivos concretos:

1. Selección de al menos 200 personas con una edad igual o superior a 90 años.
2. Dividir la muestra entre nonagenarios con un estado cognitivo sano y otros con demencia tipo Alzheimer.
3. Análisis en todos los sujetos de 64 loci SNPs, distribuidos en 13 genes candidatos *FOXO3*, *SIRT1*, *TOMM40*, *APOE*, *PICALM*, *COMT*, *CETP*, *CLU*, *CR1*, *IL-6*, *PCK-1*, *ZNF224*, *ACE* mediante Taqman array.
4. Validación de los resultados de los SNPs significativos.

Metodología

Diseño del estudio

El estudio está planteado como multicéntrico, prospectivo, descriptivo y analítico, en el ámbito del País Vasco, con la incorporación de muestras de Biobancos a nivel nacional.

Población elegible

Individuos con una edad superior a 90 años.

Cálculo del tamaño muestral

El tamaño muestral se ha calculado teniendo en cuenta los datos de las frecuencias alélicas y haplotípicas de los genes candidatos seleccionados de Hapmap. Si bien Hapmap no recoge toda la variabilidad genética observada en personas longevas⁵⁶, resulta la mejor aproximación disponible.

Las personas con una edad superior a los 90 años en la CAPV representan el 0,5% de total de la población. Por lo que las 200 personas con una edad superior a 90 años propuesta para recoger representan el 2% de la población nacida antes de 1920.

Criterios éticos de reclutamiento

Este estudio ha sido evaluado por el comité de Ética e Investigación de la Universidad del País Vasco UPV/EHU. El estudio cumple con la Declaración de Helsinki en lo que respecta a la investigación en sujetos humanos.

Criterios de exclusión

No disponer del historial médico del participante.

Variables del estudio

Valoración cognitiva

- Screening de deterioro cognitivo: MMSE de Folstein, adaptado según edad, sexo y escolaridad.
- Función ejecutiva: test el reloj.
- Fluidez verbal: test de animales en un minuto.
- Praxias ideomotoras: Imitación de figuras del test de Barcelona revisado.
- Memoria: *Memory Impairment Screen* (MIS).
- Criterios de Demencia: DSM-IV.
- Criterios de enfermedad de Alzheimer: criterios NICDS-ADRA.
- Despistaje de demencia vascular: escala de Hachinsky.
- Estadiaje de la demencia: escala de GDS-FAST de Reisberg.

Valoración funcional

Índice de Barthel de las actividades de la vida diaria.

Antropometría y valoración nutricional

Peso, talla, Índice de masa corporal (IMC) y el test *Mini Nutritional Assessment* (MNA-SF)⁵⁷.

Valoración sensorial

Capacidad auditiva, visual y de comunicación.

Estado físico

TA, enfermedades relevantes, tratamientos e Índice de comorbilidad de Charlsson. Parámetros analíticos: glucemia basal, perfil lipídico, TSH, B-12, colesterol.

Variables sociodemográficas

Edad, género, escolaridad, profesión, antecedentes familiares de demencia y factores de riesgo cardiovascular, hábitos tóxicos, estilo de vida.

Tabla 1
Relación de SNPs a analizar dentro de los genes candidatos

Gen (H. sapiens)	SNPs a analizar	Tipo de estudio del SNP	Gen (H. sapiens)	SNPs a analizar	Tipo de estudio del SNP
FOXO3	rs2802292	Haplotipo	CR1	rs6656401	Puntual Haplotipo
	rs2802288			rs3818361	
	rs9372187			rs12034598	
	rs768024			rs646817	
	rs9486902			rs10779339	
	rs12206094			rs6696840	
	rs13220810			rs1323720	
	rs9480865			rs1800795	
	rs2153960			rs1800797	
	rs3800230			rs2069827	
	rs3758391			rs2069840	
	rs12778366			rs2069837	
	rs10509291			rs8192708	
rs7894483	rs3746319				
SIRT1	rs2075650	Haplotipo	PCK-1 ZNF224	rs2068061	Puntual Haplotipo
	rs429358			rs259777	
TOMM40	rs7412	Puntual	ACE	rs1800764	Haplotipo
	rs5882			rs4459609	
APOE	rs7205804	Haplotipo	PICALM	rs4309	Puntual
	rs12708974			rs8075924	
CETP	rs9930761	Haplotipo	COMT	rs4267385	Puntual Haplotipo
	rs289715			rs4324	
	rs4784744			rs4311	
	rs12720898			rs541458	
	rs12708980			rs3851179	
	rs1800777			rs4680	
	rs9331888			rs4646312	
	rs2279590			rs4633	
	rs11136000			rs2239393	
	rs3087554			rs174696	
	rs9331931			rs9306235	
	rs9331908			rs9332377	

Neuroimagen

En los casos en los que se disponga se recogerá los comentarios generales de TAC.

Variables biológicas

A cada participante se le extraerán 2 tubos de EDTA de 10 ml de sangre periférica. Mediante el proceso de *Salting-out* se obtendrá el ADN con el que realizar los estudios genéticos.

Variables genéticas

En total se estudiarán 64 SNPs en los genes candidatos. Siete de los SNPs se estudiarán de forma independiente, en base a los datos obtenidos en la revisión bibliográfica que muestran su relación con la longevidad o la demencia. Para el resto de los 57 SNPs que se estudiarán se han elegido aquellos tagSNPs disponibles en la base de datos de HapMap. Los criterios de selección fueron: 1) Menor frecuencia alélica (MAF) $\geq 5\%$, y 2) Una $r^2 \geq 0,8$, tabla 1.

Análisis estadístico

Estadística descriptiva general; media, mediana, desviación estándar, valores mínimos y máximos de las variables de escala con el paquete estadístico SPSS versión 17.0.

Para la comparación entre grupos (con demencia o sin demencia) se utilizará el test χ^2 , G-test (variable cualitativa) y ANOVA (variables cuantitativas).

Los datos obtenidos del ensayo TaqMan array serán analizados mediante los programas estadísticos PHASE, P-LINK y Haploview. Entre los diferentes estadísticos que se aplicarán se incluirán:

Comprobación del equilibrio de las poblaciones (*Hardy Weinberg Equilibrium*) y desequilibrio de ligamiento (LD).

Tests estadísticos para la determinación de asociaciones significativas alelo/genotipo, utilizando como controles los participantes sin demencia y como casos los pacientes afectados por la EA. Estratificación y cálculo por presencia/ausencia del alelo APOE ϵ 4.

Clustering estadístico atendiendo a los correspondientes genotipos.

El cálculo de riesgo para los alelos asociadas a la demencia se establecerá mediante el cálculo del *Odds ratio* (OR), utilizando el cálculo de la regresión logística multinomial con un intervalo de confianza del 95%. Se considerará como diferencias estadísticamente significativas valores de $p < 0,05$.

Esquema del estudio y plan de trabajo

El período máximo de realización del estudio está establecido en 36 meses.

Las fases en las que se divide el estudio son:

Fase 1. Fase de iniciación

Inclusión de los sujetos en el estudio. Recogida de muestras de sangre y recogida de datos. Esta fase se llevará a cabo durante la primera anualidad.

Fase 2. Fase de ejecución

Extracción de ADN de las muestras de sangre. Normalización de las concentraciones de ADN para la ejecución del análisis mediante Taqman array. Se realizará en la Universidad del País Vasco UPV-EHU. Validación de los datos mediante el diseño de Snap-Shot. Esta fase se llevará a cabo durante la segunda anualidad.

Fase 3. Fase de entrega de resultados

Tratamiento estadístico de los datos. Análisis de los genotipos. Elaboración del manuscrito y memoria final de resultados. Esta fase se llevará a cabo durante la tercera anualidad.

Tabla 2

Análisis preliminar de las características demográficas más relevantes de los sujetos participantes

N	112
Mujeres (%)	82,14
Edad media \pm DS (años)	96,9 \pm 2,06
MMSE < 21 (%)	75
Patología mayor (%)	
Demencia	34
Cardiopatía	24
ACV	22
Cáncer	6
EPOC	3
Otros	14
Sanos ^a	10

DS: desviación estándar; MMSE: Mini Mental State Examination.

^a Sin patología mayor.**Fase 4: Fase de control**

Recogida de la totalidad de la muestra en la primera anualidad y de la memoria final en la tercera anualidad.

Resultados y discusión

Actualmente el proyecto cuenta con 112 participantes. Se están incluyendo sujetos activamente por dos investigadores de dos residencias diferentes del País Vasco. Las características de los individuos incluidos se presentan en la **tabla 2**.

El grupo de personas con edad superior a los 90 años es cada vez más numeroso en las sociedades desarrolladas. El factor de riesgo más importante para el desarrollo de una enfermedad neurodegenerativa es la edad. Esto origina que entre las personas nonagenarias las enfermedades neurodegenerativas afecten al 50% de los sujetos, siendo la más frecuente la EA.

Frente a esta realidad se encuentra un verdadero paradigma, las personas longevas que disfrutan de un envejecimiento saludable. Con objeto de dar explicación a los procesos que rodean a la longevidad, diversos estudios realizados en modelos animales han permitido obtener una valiosa información sobre la implicación de algunos genes. En algunos casos esta vinculación se ha podido trasladar a estudios en humanos, si bien, son necesarios más estudios específicos para encontrar nuevos genes relacionados con la longevidad.

Paralelamente, el estudio de los genes implicados en el desarrollo de las enfermedades neurodegenerativas centra actualmente un importante número de recursos científico-tecnológicos. Fruto de estos esfuerzos se ha podido observar que ciertos genes asociados a la longevidad son protectores de procesos neurodegenerativos, como la EA.

Por ello, el estudio de un grupo de personas nonagenarias representa una oportunidad de conocer la influencia de la dotación genética en la longevidad y los procesos neuroprotectores/neurodegenerativos. Conocer qué alelos pueden estar infra/sobre representados en este grupo, puede poner de manifiesto alguna posible vinculación con la longevidad. De igual modo, al comparar los nonagenarios con EA con aquellos libres de enfermedad, se pueden observar vinculaciones entre alelos con la protección o el riesgo. Asimismo, la información asociada de los participantes permitirá crear subgrupos, según factores ambientales, lo que permitirá observar interacciones entre ambiente y variaciones genéticas en el desarrollo de un envejecimiento saludable.

El presente proyecto de investigación se encuentra en ejecución. Los datos de asociación con la longevidad que sean obtenidos podrán servir de base para futuros estudios de comparación con otras poblaciones. En el caso de confirmarse será necesario por último, estudios *in vitro* o *in vivo* para demostrar la pérdida o ganancia de función debido a la variación genética identificada.

En cuanto a las limitaciones de este tipo de estudio se concretan en dos aspectos principales. Por una parte, la dificultad de obtener una muestra de personas longevas bien caracterizada. En parte esta limitación se subsana gracias al conocimiento que les proporciona a los investigadores participantes el seguimiento continuado de sus pacientes en las residencias. Sin embargo, esto genera un sesgo en la recogida de muestras al reducirlo al ámbito institucional, máxime cuando la mayoría de las personas nonagenarias no están institucionalizadas. Por ello, los investigadores del presente proyecto intentarán extender la recogida a sujetos nonagenarios no institucionalizados, supeditada a la obtención del historial clínico.

Por otra parte, aunque se ha utilizado la información del proyecto HapMap⁵⁵, las frecuencias alélicas y haplotípicas en personas nonagenarias tienen un carácter prospectivo, por lo que las estimaciones en la proporción de las frecuencia haplotípicas son solo orientativas.

Conclusiones

El estudio de la variabilidad genética de las personas nonagenarias nos puede dar información sobre la implicación de determinados alelos en la longevidad y la neuroprotección.

Consideraciones éticas

Con objeto de cumplir la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal, (LOPD), desde el momento de la recogida del consentimiento informado se realizara la codificación del consentimiento informada, el cuestionario y las muestras biológicas que se tomen del sujeto. El consentimiento se incluirá en el fichero de investigación de nivel alto, con código de inscripción en el Registro de Protección de Datos 2080310015, cuyo titular es la Universidad del País Vasco UPV/EHU. La utilización de las muestras biológicas de los sujetos participantes estarán supeditadas a lo expuesto en Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica. El presente estudio ha sido evaluado por el comité de ética e investigación de la Universidad del País Vasco UPV-EHU.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo técnico y humano de los SGIker (UPV/EHU, MICINN, GV/EJ, FEDER y FSE) y la colaboración el Banco Nacional de ADN (Salamanca). Además, destacamos el apoyo y colaboración del Foro Agure (Vitoria-Gasteiz).

Bibliografía

1. Herskind AM, McGue M, Holm NV, Sorensen TI, Harvald B, Vaupel JW. The heritability of human longevity: a population-based study of 2872 Danish twin pairs born 1870-1900. *Hum Genet.* 1996;97:319-23.
2. Iachine IA, Holm NV, Harris JR, Begun AZ, Iachine MK, Laitinen M, et al. How heritable is individual susceptibility to death? The results of an analysis of survival data on Danish, Swedish and Finnish twins. *Twin Res.* 1998;1:196-205.
3. Ljungquist B, Berg S, Lanke J, McClearn GE, Pedersen NL. The effect of genetic factors for longevity: a comparison of identical and fraternal twins in the Swedish Twin Registry. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1998;53:M441-6.
4. McGue M, Vaupel JW, Holm N, Harvald B. Longevity is moderately heritable in a sample of Danish twins born 1870-1880. *J Gerontol.* 1993;48:B237-44.
5. vB Hjelmborg J, Iachine I, Skytthe A, Vaupel JW, McGue M, Koskenvuo M, et al. Genetic influence on human lifespan and longevity. *Hum Genet* 2006;119:312-21.
6. Reed T, Dick DM. Heritability and validity of healthy physical aging (wellness) in elderly male twins. *Twin Res.* 2003;6:227-34.

7. Carmelli D, Kelly-Hayes M, Wolf PA, Swan GE, Jack LM, Reed T, et al. The contribution of genetic influences to measures of lower-extremity function in older male twins. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2000;55:B49–53.
8. Karasik D, Hannan MT, Cupples LA, Felson DT, Kiel DP. Genetic contribution to biological aging: the Framingham Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2004;59:218–26.
9. Reed T, Fabsitz RR, Selby JV, Carmelli D. Genetic influences and grip strength norms in the NHLBI twin study males aged 59–69. *Ann Hum Biol*. 1991;18:425–32.
10. Swan GE, Carmelli D, Reed T, Harshfield GA, Fabsitz RR, Eslinger PJ. Heritability of cognitive performance in aging twins. *The National Heart, Lung, and Blood Institute Twin Study*. *Arch Neurol*. 1990;47:259–62.
11. Hyun M, Lee J, Lee K, May A, Bohr VA, Ahn B. Longevity and resistance to stress correlate with DNA repair capacity in *Caenorhabditis elegans*. *Nucleic Acids Res*. 2008;36:1380–9.
12. Munoz MJ. Longevity and heat stress regulation in *Caenorhabditis elegans*. *Mech Ageing Dev*. 2003;124:43–8.
13. Munoz MJ, Riddle DL. Positive selection of *Caenorhabditis elegans* mutants with increased stress resistance and longevity. *Genetics*. 2003;163:171–80.
14. Tatar M, Kopelman A, Epstein D, Tu MP, Yin CM, Garofalo RS. A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science*. 2001;292:107–10.
15. Curtis C, Landis GN, Folk D, Wehr NB, Hoe N, Waskar M, et al. Transcriptional profiling of MnSOD-mediated lifespan extension in *Drosophila* reveals a species-general network of aging and metabolic genes. *Genome Biol*. 2007;8:R262.
16. Kenyon CJ. The genetics of ageing. *Nature*. 2010;464:504–12.
17. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*. 2000;408:239–47.
18. Naudi A, Jove M, Ayala V, Portero-Otin M, Pamplona R. Glycation of mitochondrial proteins, oxidative stress and aging. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2010;45:156–66.
19. Arking DE, Atzmon G, Arking A, Barzilai N, Dietz HC. Association between a functional variant of the KLOTHO gene and high-density lipoprotein cholesterol, blood pressure, stroke, and longevity. *Circ Res*. 2005;96:412–8.
20. Bellizzi D, Rose G, Cavalcante P, Covello G, Dato S, De Rango F, et al. A novel VNTR enhancer within the SIRT3 gene, a human homologue of SIR2, is associated with survival at oldest ages. *Genomics*. 2005;85:258–63.
21. Browner WS, Kahn AJ, Ziv E, Reiner AP, Oshima J, Cawthon RM, et al. The genetics of human longevity. *Am J Med*. 2004;117:851–60.
22. Kenyon C. The plasticity of aging: insights from long-lived mutants. *Cell*. 2005;120:449–60.
23. Papaconstantinou J. Insulin/IGF-1 and ROS signaling pathway cross-talk in aging and longevity determination. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;299:89–100.
24. Atzmon G, Rincon M, Schechter CB, Shuldiner AR, Lipton RB, Bergman A, et al. Lipoprotein genotype and conserved pathway for exceptional longevity in humans. *PLoS Biol*. 2006;4:e113.
25. Christiansen L, Bathum L, Andersen-Ranberg K, Jeune B, Christensen K, et al. Modest implication of interleukin-6 promoter polymorphisms in longevity. *Mech Ageing Dev*. 2004;125:391–5.
26. Di Bona D, Vasto S, Capurso C, Christiansen L, Deiana L, Franceschi C, et al. Effect of interleukin-6 polymorphisms on human longevity: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2009;8:36–42.
27. Sebastiani P, Solovieff N, Puca A, W. Harley S, Efthymia M, Andersen S, et al. Genetic Signatures of Exceptional Longevity in Humans. *Science*. Published online: 1 July 2010: 1190532.
28. Bertram L, McQueen MB, Mullin K, Blacker D, Tanzi RE. Systematic meta-analyses of Alzheimer disease genetic association studies: the AlzGene database. *Nat Genet*. 2007;39:17–23.
29. Sanders AE, Wang C, Katz M, Derby CA, Barzilai N, Ozelius L, et al. Association of a functional polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene with memory decline and incidence of dementia. *JAMA*. 2010;303:150–8.
30. Brunet A, Sweeney LB, Sturgill JF, F. Chua K, Paul LG, Yingxi L, et al. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science*. 2004;303:2011–15.
31. Roses AD. An inherited variable poly-T repeat genotype in TOMM40 in Alzheimer disease. *Arch Neurol*. 2010;67:536–41.
32. Roses AD, Lutz MW, Amrine-Madsen H, Saunders AM, Crenshaw DG, Sundseth SS, et al. A TOMM40 variable-length polymorphism predicts the age of late-onset Alzheimer's disease. *Pharmacogenomics J*. 2009;10:375–84.
33. Drzezga A, Grimmer T, Henriksen G, Mühlau M, Pernecky R, Miederer I, et al. Effect of APOE genotype on amyloid plaque load and gray matter volume in Alzheimer disease. *Neurology*. 2009;72:1487–94.
34. Weisgraber KH, Mahley RW. Human apolipoprotein E: the Alzheimer's disease connection. *FASEB J*. 1996;10:1485–94.
35. Donmez G, Wang D, Cohen DE, Guarente L. SIRT1 suppresses beta-amyloid production by activating the alpha-secretase gene ADAM10. *Cell*. 2010;142:320–32.
36. Pfister JA, Ma C, Morrison BE, D'Mello SR. Opposing effects of sirtuins on neuronal survival: SIRT1-mediated neuroprotection is independent of its deacetylase activity. *PLoS One*. 2008;3:e4090.
37. Harel A, Wu F, Mattson MP, Morris CM, Yao PJ. Evidence for CALM in directing VAMP2 trafficking. *Traffic*. 2008;9:417–29.
38. Martínez MF, Martín XE, Alcalay LG, Flores JC, Valiente JM, Juanbeltz BI, et al. The COMT Val158 Met polymorphism as an associated risk factor for Alzheimer disease and mild cognitive impairment in APOE 4 carriers. *BMC Neurosci*. 2009;10:125.
39. Shield AJ, Thomae BA, Eckloff BW, Wieben ED, Weinshilboum RM. Human catechol O-methyltransferase genetic variation: gene resequencing and functional characterization of variant allozymes. *Mol Psychiatry*. 2004;9:151–60.
40. Rader DJ. Molecular regulation of HDL metabolism and function: implications for novel therapies. *J Clin Invest*. 2006;116:3090–100.
41. Calero M, Tokuda T, Rostagno A, Kumar A, Zlokovic B, Frangione B, et al. Functional and structural properties of lipid-associated apolipoprotein J (clusterin). *Biochem J*. 1999;344(Pt 2):375–83.
42. Ishikawa Y, Akasaka Y, Ishii T, Komiya K, Masuda S, Asuwa N, et al. Distribution and synthesis of apolipoprotein J in the atherosclerotic aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:665–72.
43. Boggs LN, Fuson KS, Baez M, Churgay L, McClure D, Becker G, et al. Clusterin (Apo J) protects against in vitro amyloid-beta (1–40) neurotoxicity. *J Neurochem*. 1996;67:1324–7.
44. Kishimoto T, Akira S, Taga T. Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines. *Science*. 1992;258:593–7.
45. McDonald JF, Nelsestuen GL. Potent inhibition of terminal complement assembly by clusterin: characterization of its impact on C9 polymerization. *Biochemistry*. 1997;36:7464–73.
46. Cao H, van der Veer E, Ban MR, Hanley AJ, Zinman B, Harris SB, et al. Promoter polymorphism in PCK1 (phosphoenolpyruvate carboxykinase gene) associated with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:898–903.
47. Cesaro E, De Cegli R, Medugno L, Florio F, Grosso M, Luppo A, et al. The Kruppel-like zinc finger protein ZNF224 recruits the arginine methyltransferase PRMT5 on the transcriptional repressor complex of the aldolase A gene. *J Biol Chem*. 2009;284:32321–30.
48. Hamilton G, Proitsi P, Jehu L, Morgan A, Williams J, O'Donovan MC, et al. Candidate gene association study of insulin signaling genes and Alzheimer's disease: evidence for SOST, PCK1, and PPARgamma as susceptibility loci. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2007;144B:508–16.
49. Lienenluke B, Christ B. Impact of interleukin-6 on the glucose metabolic capacity in rat liver. *Histochem Cell Biol*. 2007;128:371–7.
50. Medugno L, Costanzo P, Luppo A, Monti M, Florio F, Pucci P, et al. A novel zinc finger transcriptional repressor, ZNF224, interacts with the negative regulatory element (AldA-NRE) and inhibits gene expression. *FEBS Lett*. 2003;534:93–100.
51. Shulman JM, Chibnik LB, Aubin C, Schneider JA, Bennett DA, De Jager PL. Intermediate phenotypes identify divergent pathways to Alzheimer's disease. *PLoS One*. 2010;5:e11244.
52. Brasier AR, Recinos 3rd A, Eledrisi MS. Vascular inflammation and the renin-angiotensin system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1257–66.
53. Otani A, Takagi H, Oh H, Suzuma K, Matsumura M, Ikeda E, et al. Angiotensin II-stimulated vascular endothelial growth factor expression in bovine retinal pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:1192–9.
54. Schrader LI, Kinzenbaw DA, Johnson AW, Faraci FM, Didion SP. IL-6 deficiency protects against angiotensin II induced endothelial dysfunction and hypertrophy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:2576–81.
55. Tanaka T. HapMap project. *Nippon Rinsho*. 2009;67:1068–71.
56. Halaschek-Wiener J, Amirabbasi-Beik M, Monfared N, Pieczyk M, Sailer C, Kollar A, et al. Genetic variation in healthy oldest-old. *PLoS One*. 2009;4:e6641.
57. Kaiser MJ, Bauer JM, Ramsch C, Uter W, Guigoz Y, Cederholm T, et al. Validation of the Mini Nutritional Assessment short-form (MNA-SF): a practical tool for identification of nutritional status. *J Nutr Health Aging*. 2009;13:782–8.