



ORIGINAL/SECCIÓN BIOLÓGICA

El estrés oxidativo como predictor de longevidad; estudio de casos y controles



Ángel Belenguer Varea^{a,*}, Kheira Mohamed Abdelaziz^b, Juan Antonio Avellana Zaragoza^a, Consuelo Borrás Blasco^b, Paula Sanchis Aguilar^c y José Viña Ribes^b

^a Sección de Geriatria, Hospital Universitario de La Ribera de Alzira, Valencia, España

^b Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, Valencia, España

^c Sección de Traumatología, Hospital Universitario de La Ribera de Alzira, Valencia, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 3 de febrero de 2014

Aceptado el 30 de mayo de 2014

On-line el 7 de agosto de 2014

Palabras clave:

Longevidad

Estrés oxidativo

Centenarios

Estudio de casos y controles

R E S U M E N

Introducción: La longevidad humana es un fenómeno complejo en el que influyen factores genéticos y ambientales. El estrés oxidativo (EO) puede jugar un papel importante en este proceso.

El envejecimiento exitoso podría relacionarse con la habilidad del organismo para hacer frente al EO. Nuestro objetivo es comparar los niveles en plasma de malondialdehído (MDA) y proteínas oxidadas (PO) entre sujetos mayores de 97 años y con edad entre 70 y 80 años, para comprender mejor los efectos del estrés oxidativo en la longevidad humana.

Material y métodos: Estudio de casos y controles de base poblacional. Se consideraron casos todas aquellas personas nacidas y residentes en la comarca de la Ribera (Valencia), con edad superior a 97 años y que aceptaron participar en el mismo. Los controles son sujetos de la misma base poblacional, elegidos al azar, y con edad entre 70 y 80 años. Se realiza un análisis descriptivo de variables sociodemográficas, clínicas y funcionales; se calcula la razón de odds (OR) de ser centenario en función del cuartil de los niveles de PO y MDA; y la significación estadística de la tendencia mediante el test Mantel-Haenszel.

Resultados: Fueron incluidos 28 casos y 31 controles. La situación funcional, así como el porcentaje de individuos robustos, fue menor en el grupo de casos que en los controles. Los niveles de MDA fueron menores en los casos ($1,44 \pm 0,45$ vs. $1,84 \pm 0,59$, $p = 0,005$), al igual que los niveles de PO ($64,29 \pm 15,73$ vs. $76,52 \pm 13,44$, $p = 0,002$). Al comparar a los sujetos con niveles de MDA y PO en el cuartil inferior respecto al superior, la OR de ser centenario es de 3,8 para el MDA y de 5,7 para las PO, con una $p = 0,029$ y $p = 0,044$, respectivamente, en la significación de la tendencia.

Conclusiones: En los sujetos de nuestro estudio los niveles plasmáticos de MDA y PO son menores en centenarios que en ancianos más jóvenes, y se observa que a menor grado de EO mayor es la probabilidad de ser centenario.

© 2014 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de SEGG.

Oxidative stress and longevity; a case-control study

A B S T R A C T

Introduction: Human longevity is a complex issue influenced by genetic and environmental factors. Oxidative stress (OE) could play an important role in this process.

Successful aging could be related with the organism ability facing OE. In the present study we compared malondialdehyde (MDA) and oxidized proteins (OP) plasma levels, in elderly people older than 97 years and 70-80 years old, to better understand the effects of OE on human longevity.

Material and methods: Population-based case control study. We considered as cases patients who were born and live on la Ribera county in Valencia (Spain) older than 97 years old and who accepted to participate in the study. Controls were from the same poblational base, chosen randomly, and 70-80 years old. We made a descriptive analysis of sociodemographic, clinic and functional variables; an odds ratio (OR)

Keywords:

Longevity

Oxidative stress

Centenarians

Case-control study

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: Abelenguer@hospital-ribera.com (Á. Belenguer Varea).

estimation of being centenarian by OP and MDA quartiles; and a tendency analysis by Mantel-Haenszel test.

Results: Twenty eight cases and 31 controls were included. Functional state and robust percentage were worse in cases. MDA ($1,44 \pm 0,45$ vs $1,84 \pm 0,59$, $p=0,005$), and OP ($64,29 \pm 15,73$ vs. $76,52 \pm 13,44$, $p=0,002$) levels, were significantly lower in cases. The OR of being centenarian in lower/higher quartile were 3,8 for MDA and 5,7 for OP, with a Mantel-Haenszel signification of 0,029 and 0,044 respectively.

Conclusions: In our study OE level were lower in centenarians than in younger elderly, and the lower the OE grade, the higher were the likelihood of being centenarian.

© 2014 Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of SEGG.

Introducción

El envejecimiento humano es un proceso complejo y multifactorial, y son numerosas las teorías que se han desarrollado para intentar explicarlo¹.

Una de las hipótesis más estudiadas y aceptadas acerca de la base molecular del envejecimiento ha sido la teoría del estrés oxidativo (EO), que sugiere que los radicales libres, formados endógenamente en los procesos metabólicos de utilización del oxígeno, pueden jugar un papel esencial en el proceso de envejecimiento². Desde la conceptualización de esta teoría, hace más de 50 años, numerosos estudios han mostrado que el daño oxidativo aumenta en muchos organismos con la edad, y que muchas formas diferentes de especies reactivas de oxígeno pueden ser las culpables del daño oxidativo acumulado en el organismo. La base de esta teoría es que existe en todas las células de organismos aeróbicos un estado crónico de EO, incluso bajo condiciones fisiológicas normales, por un desequilibrio entre prooxidantes y antioxidantes. Este desequilibrio lleva a la acumulación de daño oxidativo a macromoléculas, que aumenta durante el envejecimiento y contribuye al progresivo deterioro en la función de procesos celulares³.

No obstante, en los últimos años los resultados de varios estudios realizados en mamíferos, habitualmente ratones, plantean dudas respecto a la relación entre la duración de la vida y el EO. Así, encontramos estudios en los que no se correlaciona la duración de la vida con la oxidación o incluso se encuentra un aumento del daño celular asociado con una vida prolongada⁴. Otros trabajos se han diseñado para estudiar más directamente si una alteración en la respuesta al EO puede alterar la duración de la vida, utilizando ratones mutantes generados para reducir o eliminar determinados antioxidantes o para sobreexpresar algunos antioxidantes en un nivel mayor que los encontrados en el animal natural. Los resultados de estos estudios, en general, no se han relacionado con un aumento en la longevidad de los animales modificados.

Se han estudiado numerosos biomarcadores de daño oxidativo en humanos, en plasma, en células como los eritrocitos y en muestras como orina, tejidos, o saliva entre otras⁵. El malondialdehído (MDA) es uno de los productos generados durante el proceso de la oxidación de los lípidos en las membranas biológicas, capaz de provocar una alteración estructural en las mismas que desemboca en una pérdida de fluidez, y por tanto, un aumento de su rigidez y mal funcionamiento y, por ello, es un índice ampliamente utilizado para conocer el nivel de oxidación lipídica de las membranas celulares⁶. Se han descrito varios métodos de detección^{7,8}, pero la mayoría son poco específicos ya que detectan todos los aldehídos de la muestra al utilizar el ácido triobarbitúrico. Gracias al desarrollo de la cromatografía líquida de alta resolución, se consigue la separación del aductomalondialdehído-ácido triobarbitúrico de otras sustancias que pueden interferir en la determinación⁹. En el presente trabajo se ha medido el MDA ya que numerosos estudios revelan su incremento con el envejecimiento¹⁰⁻¹³.

Las proteínas son un objetivo fundamental del daño oxidativo, debido a su abundancia en las células, en el plasma y en la mayoría de los tejidos, y también por su rápida tasa de reacción con

radicales libres y otros oxidantes, lo que provoca la pérdida de las funciones específicas de las proteínas dañadas. Se ha descrito la acumulación de las proteínas oxidadas con la edad¹⁴⁻¹⁸. En los procesos de daño oxidativo a proteínas, algunos aminoácidos como la lisina, la prolina y la arginina, se oxidan dando lugar a grupos carbonilo, de modo que el contenido en carbonilos de las proteínas se puede emplear como un indicador de daño oxidativo a las mismas^{19,20}. Otros aminoácidos como la histidina, la cisteína y la metionina, también sufren daño oxidativo, pero no forman derivados de tipo carbonilo¹⁹. Una de las características más importantes de la oxidación de proteínas, por una gran variedad de rutas, es la generación de grupos carbonilo. De hecho, entre todos los tipos de modificaciones debidos a dicha oxidación, las proteínas carboniladas son las más frecuentes²¹. Por ello, se ha propuesto su cuantificación como un buen método para valorar el daño oxidativo proteico y su correlación con el envejecimiento y la severidad de algunas enfermedades¹⁹. Este daño se puede determinar mediante dos métodos: marcaje con borohidruro de sodio tritado o mediante la reacción con fenilhidrazinas. El método más empleado se basa en la reactividad de la 2,4-dinitrofenilhidrazina con los grupos carbonilo para formar 2,4-dinitrofenilhidrazona, que se cuantifica mediante espectrofotometría; o también se puede realizar un Western blotting de proteínas oxidadas, una vez derivatizadas con 2,4-dinitrofenilhidrazina^{14,20,22}.

Partiendo de la hipótesis de que el envejecimiento exitoso, y la longevidad extrema, pueden estar influenciados por la habilidad del organismo para hacer frente al EO, el objetivo del estudio es comparar el daño oxidativo presente en sujetos mayores de 97 años (centenarios) y sujetos con edades entre 70 y 80 años, mediante la determinación de los niveles plasmáticos de MDA y proteínas oxidadas.

Material y métodos

Diseño del estudio

Se trata de un estudio descriptivo analítico de casos y controles de base primaria. La población de estudio está compuesta por todos los sujetos de ambos sexos nacidos y residentes en la Comarca de la Ribera de la Comunidad Valenciana incluidos en la base de datos poblacional SIP.

Identificación de casos y controles

Se disponía del listado de la base de datos SIP en la que están incluidos todos los habitantes del área del estudio, ordenados por edad, localidad y género. Se seleccionaron como casos potenciales a todos los sujetos de más de 97 años de edad. Para la identificación de los controles se generó un listado aleatorio, estratificado por género, de todos los sujetos con edades comprendidas entre los 70 y 80 años; una vez identificado un caso se localizó un control del mismo género. Los investigadores de campo contactaron con los sujetos seleccionados y sus familiares o cuidadores para informarles del estudio y, en el caso de que aceptasen participar en el

mismo, concertar una cita para la entrevista clínica y obtención de las muestras.

Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron como casos, en el grupo que denominamos centenarios, los sujetos mayores de 97 años de edad nacidos en la comarca de la Ribera, que residan al menos 6 meses al año en la misma, y que firmen el consentimiento informado para participar en el estudio, si bien podía dar su consentimiento un familiar o cuidador en caso de que el sujeto no estuviera capacitado. Se incluyeron como controles a los sujetos identificados en el listado correspondiente, nacidos y residentes al menos 6 meses en la comarca de estudio y que firmen el consentimiento informado. Se excluyeron los casos que se encontraban en una situación de terminalidad que no permitía la realización de las pruebas clínicas o funcionales, y los controles con expectativa de vida menor de 6 meses, o con un ingreso hospitalario urgente en los últimos 3 meses.

Variables del estudio

Se elaboró un formulario estructurado para la entrevista clínica en el que se recogieron variables demográficas, antecedentes personales y familiares, valoración funcional (Lawton, Barthel, Rankin, FAC), nutricional (DETERMINE), cognitiva y afectiva (MEC de lobo y Goldberg), social (OARS) y calidad de vida (QL-Index), síndromes geriátricos, consumo de recursos sanitarios y sociales, get up and go cronometrado y datos de la exploración física (saturación basal de oxígeno, capacidad vital forzada y volumen espiratorio máximo, peso y talla, tensión arterial, frecuencia cardíaca y respiratoria, temperatura y fuerza de presión palmar).

Se realizó una extracción de sangre para obtención de hemograma completo, glucosa, hemoglobina glucosilada A1c, creatinina, urea, sodio, potasio, calcio, magnesio, fósforo, vitamina D, CPK, GOT, GPT, fosfatasas alcalinas, GGT, bilirrubina total, proteínas totales, hierro, ferritina, transferrina, colesterol total, HDL y LDL, triglicéridos, homocisteína, vitamina B12, ácido fólico, TSH, proteína C reactiva y electroforesis de proteínas séricas.

Determinación de los niveles de peroxidación lipídica en plasma humano

Para la determinación de los niveles de peroxidación lipídica utilizamos, como marcador de daño oxidativo a lípidos, el MDA, que determinamos mediante cromatografía líquida de alta presión.

Se sigue el método descrito por Wong et al.²³ Este método se basa en la hidrólisis de los lipoperóxidos presentes en la muestra y posterior formación de un aducto entre el ácido 2-tiobarbitúrico y el MDA liberado (MDA-TBA₂).

Western blotting de proteínas oxidadas

El EO modifica la actividad de las proteínas y las hace más susceptibles a la degradación. Los radicales libres derivados del O₂ afectan a las proteínas modificando algunos aminoácidos, mediante la formación de puentes disulfuro en cisteína, o introduciendo grupos carbonilo (aldehídos y cetonas). Estos grupos carbonilo se pueden detectar por western blotting, al derivar las muestras con 2,4-dinitrofenilhidrazina se marcan los grupos, y queda como 2,4-dinitrofenilhidrazona, para el cual hay anticuerpos específicos²⁰.

Para la derivación de las muestras de plasma humano de nuestro estudio, se utilizaron los reactivos presentes en el kit (OxyBlot™ Protein Oxidation Detection Kit, MILLIPORE), siguiendo el protocolo aconsejado por el fabricante.

Análisis estadístico

Los datos recogidos en el formulario de la entrevista clínica se introdujeron en una base de datos Access 2007, y los datos analíticos en una hoja de Excel 2007; ambas bases se unieron en SPSS v19 para su análisis estadístico. Para la descripción de la distribución de las variables se utilizaron porcentajes en el caso de las variables cualitativas y medias e intervalos de confianza en el caso de las cuantitativas. Para la comparación de proporciones se utilizó la prueba de Chi-cuadrado y la prueba exacta de Fisher. En la comparación de medias se utilizó la prueba de la t de Student, empleando la corrección de Welch cuando no se cumple la homogeneidad de las varianzas; en el caso de no cumplir el supuesto de normalidad con la prueba de Shapiro-Wilk se aplica la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney. Para calcular la razón de odds de ser centenario en función de los niveles de proteínas oxidadas y de MDA, se clasificó en cuartiles la distribución de los mismos, se calculó la OR para cada cuartil con su intervalo de confianza, tomando como referencia el cuartil inferior en los controles²⁴. Se comprobó si existe o no una tendencia lineal empleado la prueba de Chi de Mantel-Haenszel.

Aspectos éticos

El protocolo completo del estudio ha sido valorado y aceptado por la Comisión de Investigación y Docencia y por el Comité de Ética y Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de la Ribera de Alzira (Valencia). Se han tenido en cuenta los principios de autonomía, beneficencia, no maleficencia y justicia. El paciente o su representante pudieron decidir en cualquier momento abandonar el estudio y que se eliminasen sus datos del mismo.

Resultados

Se identificaron 32 casos y 32 controles. Cinco individuos fueron excluidos y no se les realizó la entrevista clínica, 3 por desacuerdo del familiar o cuidador principal con la participación en el estudio y 2 por el estado clínico del paciente. Finalmente se incluyeron en el análisis 59 personas, 28 casos y 31 controles. La edad media fue de 100,7 años (DE 2,4) en los casos y de 75,8 (DE 2,1) en los controles. Las pérdidas dieron lugar a un desajuste en el género, de manera que el 67,7% de los controles fueron mujeres frente al 78,6% de los casos, aunque la diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0,35$).

En la **tabla 1** se muestran las principales características clínicas y funcionales de la muestra. Aunque la prevalencia de algunos antecedentes, como la hipertensión arterial o la demencia es significativamente mayor en el grupo de centenarios, cuando consideramos el número total de comorbilidades en ambos grupos no hubo diferencias significativas; tampoco cuando medimos el número de neoplasias. La situación funcional es significativamente peor en el grupo de centenarios, solo un 3,6% es independiente para todas las actividades instrumentales de la vida diaria y un 61% presenta dependencia total en ellas. En las actividades básicas de la vida diaria, el 10,7% de los centenarios es completamente independiente, Barthel 100, (frente a un 67,7% del grupo control), el 42,9% muestra un dependencia ligera, Barthel 60-95, (frente a un 29% del grupo control) y la prevalencia de dependencia total, Barthel menor de 20, es del 25% en los casos frente a un 3,2% ($p < 0,000$). La capacidad de deambular de forma independiente en cualquier tipo de superficie, FAC 5, estaba presente en el 14,3% de los centenarios, por un 67,7% de los controles, mientras que el 32,1% necesitaba gran ayuda o no era capaz de deambular en absoluto, FAC 0-1, frente al 3,2% de los controles ($p < 0,000$).

Los valores de los parámetros de EO analizados fueron menores en el grupo de centenarios de forma estadísticamente

Tabla 1
Principales variables clínicas y funcionales

	70-80 (n = 31)	Centenarios (n = 28)	P
Tabaquismo	6,5%	14,8%	0,402
Enolismo	29,0%	11,1%	0,093
Ejercicio	46,7%	7,4%	0,001
Determine	2,4 ± 1,9	7 ± 4,1	<0,000
NNeop	0,4 ± 0,6	0,2 ± 0,4	0,272
Comorb	3,1 ± 2,1	2,4 ± 1,7	0,125
Demencia	3,6%	50%	0,005
MEC	30,1 ± 8,8	13,2 ± 10,3	< 0,000
GDS total	1,8 ± 4,0	1,4 ± 2,5	0,628
FAC	4,5 ± 1,1	2,6 ± 1,8	<0,000
AAVD sí	93,1%	11,5%	<0,000
Lawton	7,4 ± 1,6	1,0 ± 2,0	<0,000
Barthel	93,9 ± 18,4	50,5 ± 32,8	<0,000
OARS	1,6 ± 1,0	1,9 ± 1,0	0,263
QL-Index	4,4 ± 1,1	6,5 ± 18,9	0,574
G&G	17,3 ± 16,2	23,6 ± 30,8	0,373
IMC	30,6 ± 6,5	27,3 ± 5,5	0,101
FuerzaD	26,1 ± 23,8	13,0 ± 18,9	0,023
FuerzaI	24,2 ± 22,8	11,6 ± 19,0	0,026
Robusto	48,4%	7,1%	<0,000
Prefrágil	41,9%	75,0%	<0,000
Frágil	9,7%	17,9%	<0,000

AAVD: actividades avanzadas de la vida diaria; Comorb: número de enfermedades; FAC: funcional ambulation classification; GDS: geriatric depression scale; G&G: get up and go cronometrado; IMC: índice de masa corporal; MEC: mini examen cognoscitivo; NNeop: número de neoplasias; OARS: older american resources and services, escala de recursos sociales; P: nivel de significación.

significativa, MDA $1,44 \pm 0,45$ vs. $1,84 \pm 0,59$, $p = 0,005$, proteínas oxidadas $64,29 \pm 15,73$ vs. $76,52 \pm 13,44$, $p = 0,002$ (figs. 1 y 2). Tomando como referencia los valores del cuartil superior, para ambos parámetros se cumple que la razón de odds de ser centenario aumenta conforme los niveles de oxidación se sitúan en cuartiles inferiores. Aunque los intervalos de confianza de cada cuartil son amplios e incluyen el uno, el resultado sugiere un gradiente del tipo dosis-respuesta que en la prueba de tendencia Chi de Mantel-Haenszel tiene una p de 0,044 en el caso de las proteínas oxidadas y de 0,029 en el caso del MDA (figs. 3 y 4).

Discusión

En nuestro estudio de casos y controles los ancianos mayores de 97 años mostraron menos EO que los ancianos con edades comprendidas entre los 70 y los 80 años; por otra parte, encontramos que a menor nivel de oxidación la probabilidad de ser centenario es

mayor. La aportación principal de nuestro estudio radica en la idea de valorar la tendencia de longevidad que muestran los sujetos en función de sus niveles de proteínas oxidadas y MDA, respecto de aquellos situados en el cuartil superior.

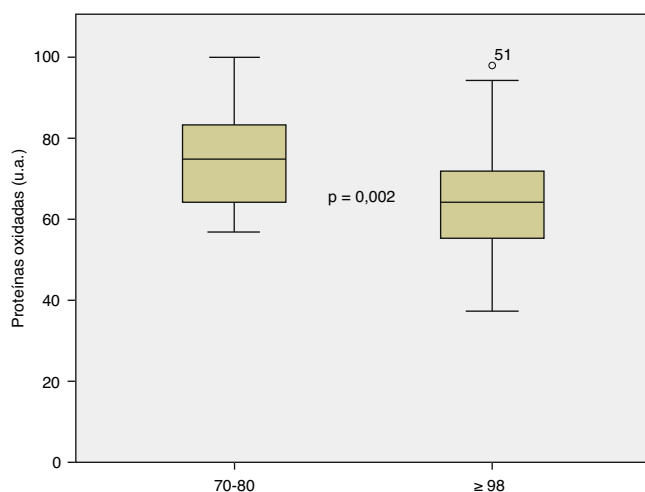


Figura 1. Niveles proteínas oxidadas / grupo de edad.

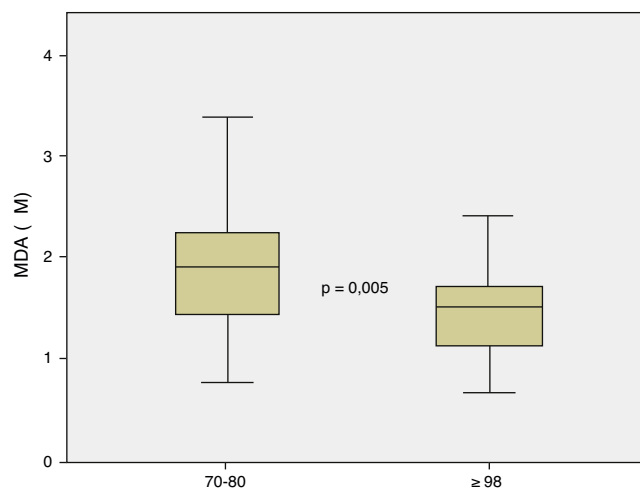


Figura 2. Niveles de malondialdehído / grupo de edad.

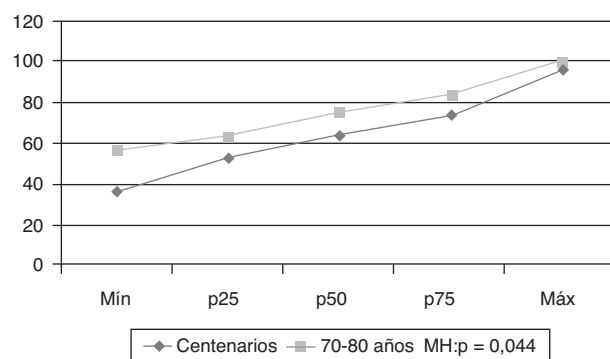


Figura 3. Análisis de tendencias, proteínas oxidadas (u.a.).

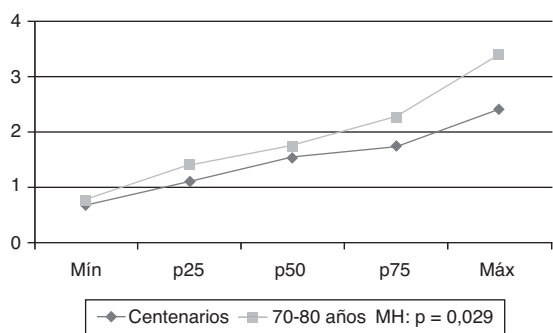


Figura 4. Análisis de tendencias, MDA (µM).

De entre los numerosos marcadores de EO estudiados en el envejecimiento, en nuestro estudio hemos determinado el MDA y las PO en plasma. El MDA puede ser un buen marcador de longevidad y edad biológica, frente a edad cronológica, y la estimación de la oxidación proteica podría ser un factor importante a la hora de predecir el proceso de envejecimiento y las enfermedades asociadas a este²⁵. Los parámetros de EO pueden determinarse en diferentes tejidos, líquidos y células del organismo; pensamos que la determinación en plasma constituye un buen reflejo del estado sistémico de los mismos y puede ser más representativo del estado general que su determinación en cualquier otra célula del organismo, que sería más específico.

En los últimos años se ha creado cierta incertidumbre en cuanto a la relación del EO con el envejecimiento y la longevidad. En nuestra opinión, esta proviene fundamentalmente de estudios realizados con animales de laboratorio en los que se han utilizado modelos modificados genéticamente para alterar el estado prooxidante o antioxidante de los mismos. Los resultados han sido bastante heterogéneos, aunque de forma global no parecen apoyar la hipótesis de que el EO sea pieza clave en el envejecimiento y la longevidad²⁶. No obstante, puede objetarse que los modelos de laboratorio, con unas condiciones ambientales muy distintas a las naturales, y con una expresión artificialmente muy alterada de uno o varios sistemas oxidantes o antioxidantes, tal vez no reflejen de manera suficientemente acertada lo que ocurre en condiciones normales en el ser humano.

Numerosos trabajos en humanos han estudiado el papel del EO en patología cardiovascular, neurológica y endocrina, entre otras, que resultan importantes en el proceso de envejecimiento²⁷⁻³³. Cabría esperar una progresiva acumulación del daño oxidativo con el envejecimiento, de manera que fuese mayor en edades más avanzadas; sin embargo, algo singular ocurre en los sujetos que experimentan una longevidad extrema como los centenarios, de forma que algunos estudios, al igual que el nuestro, encuentran que al comparar con ancianos más jóvenes, el daño oxidativo que presentan estos últimos es mayor³⁴⁻³⁶.

Se han encontrado cambios en el patrón antioxidante con la edad; en general el sistema antioxidante parece sufrir un declinar progresivo³⁷, pero los sujetos más longevos pueden sufrirlo de forma distinta. Los ancianos no centenarios presentan una disminución de los antioxidantes no enzimáticos y un incremento de la actividad antioxidante enzimática, como en el caso de la superóxido dismutasa, los centenarios, sin embargo, tienen niveles más bajos de superóxido dismutasa y más altos de vitamina A y E. Es posible que la actividad antioxidante de vitaminas liposolubles sea de gran relevancia para la longevidad, no solo como antioxidantes, sino también como factores que garanticen la eficiencia de otros mecanismos homeostáticos, como el sistema inmunitario³⁸. Estas diferencias pueden deberse a factores ambientales, higiénico-dietéticos, y por supuesto genéticos.

Los mecanismos del EO son muy complejos y en ellos pueden estar implicados de forma relevante muchos genes. Los candidatos a genes de longevidad codifican proteínas involucradas en varios procesos biológicos, como el metabolismo de las lipoproteínas, el sistema de señalización GH1/IGF1/insulina, el de daño y reparación del ADN y vías pro y antioxidantes. Un estudio amplio y reciente ha estudiado la asociación de variaciones de un solo nucleótido en 148 genes de estos procesos, no obstante esta novedosa aproximación de análisis de un solo nucleótido no ha conseguido replicar los resultados en grupos de casos distintos de los de la cohorte de estudio, por lo que son necesarios más estudios en este sentido³⁹.

El p53 es un supresor tumoral, codificado por el gen TP53, que entre otras funciones media respuestas celulares antiproliferativas a señales oxidativas y que juega un papel en la resistencia al EO. Parece que este activa una respuesta transcripcional específica en el p53, mediada por p66, y una isoforma denominada p44/p53 que regula la senescencia y el envejecimiento⁴⁰. El p53 también contribuye al envejecimiento aunque su papel específico es controvertido.

El acortamiento de los telómeros se asocia a enfermedades relacionadas con la edad, es un biomarcador de senescencia y también forma parte de un sistema de sensado y señalización que facilita la reparación del ADN o la apoptosis. Un posible determinante de la longitud telomérica es el EO de manera que variaciones en genes asociados con el mismo explican una proporción sustancial de la variación en la longitud de los telómeros⁴¹.

Los resultados de nuestro estudio vienen a apoyar la importancia que el EO tiene en el proceso de envejecimiento y en la longevidad. Evidentemente ambos fenómenos son muy complejos, numerosos elementos influyen en ellos y es posible incluso que la importancia que juegue cada uno pueda variar en función de factores muy diversos, como el estilo de vida, la carga genética o la localización geográfica. No afirmamos por tanto que el EO sea el factor principal que explique y determine el envejecimiento y la longevidad pero sin duda juega un papel importante que hay que seguir investigando.

Financiación

Este trabajo ha sido financiado con los fondos de la Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF) RD0006/0017; Ayuda a la investigación de la Consellería de Sanitat de la Comunidad Valenciana AP-060/08; Ayudas a la investigación del Hospital Universitario de la Ribera de Alzira (Valencia) 003/09.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

En el grupo de estudio «centenarios» participan diferentes profesionales del Departamento de Fisiología de la Universidad de Valencia y del Hospital Universitario de la Ribera de Alzira (Valencia), que colaboran inspirados por la filosofía del trabajo en red.

Bibliografía

1. Cefalu CA. Theories and mechanisms of aging. *Clin Geriatr Med.* 2011;27:491-506.
2. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol.* 1956;11:298-300.
3. Sohal R, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science.* 1996;273:59-63.
4. Andziak B, O'Connor TP, Qi W, DeWaal EM, Pierce A, Chaudhuri AR, et al. High oxidative damage levels in the longest-living rodent, the naked mole-rat. *Aging Cell.* 2006;5:463-71.

5. Pandey KB, Rizvi SI. Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans. *Oxid Med Cell Longev*. 2010;3:2–12.
6. Sanz A, Pamplona R, Barja G. Is the mitochondrial free radical theory of aging intact. *Antioxid Redox Signal*. 2006;8:582–99.
7. Bird RP, Draper HH. Comparative studies on different methods of malonaldehyde determination. *Methods Enzymol*. 1984;105:299–305.
8. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991;11:81–128.
9. Knight JA, Smith SE, Kinder VE, Pieper RK. Urinary lipoperoxides quantified by liquid chromatography, and determination of reference values for adults. *Clin Chem*. 1988;34:1107–10.
10. Inal ME, Kanbak G, Sunal E. Antioxidant enzyme activities and malondialdehyde levels related to aging. *Clin Chim Acta*. 2001;305(1-2):75–80.
11. Sverko V, Balog T, Sobocanec S, Gavella M, Marotti T. Age-associated alteration of lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in CBA and AKR mice. *Exp Gerontol*. 2002;37(8-9):1031–9.
12. Mutlu-Türkoğlu U, İlhan E, Öztezcan S, Kuru A, Aykaç-Toker G, Uyşal M. Age-related increases in plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in elderly subjects. *Clin Biochem*. 2003;36:397–400.
13. Gil L, Siems W, Mazurek B, Gross J, Schroeder P, Voss P, et al. Age-associated analysis of oxidative stress parameters in human plasma and erythrocytes. *Free Radic Res*. 2006;40:495–505.
14. Oliver CN, Ahn BW, Moerman EJ, Goldstein S, Stadtman ER. Age-related changes in oxidized proteins. *J Biol Chem*. 1987;262:5488–91.
15. Stadtman ER. Metal ion-catalyzed oxidation of proteins: biochemical mechanism and biological consequences. *Free Radic Biol Med*. 1990;9:315–25.
16. Agarwal S, Sohal RS. Aging and protein oxidative damage. *Mech Ageing Dev*. 1994;75:11–9.
17. Sohal RS. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radic Biol Med*. 2002;33:37–44.
18. Jha R, Rizvi SI. Carbonyl formation in erythrocyte membrane proteins during aging in humans. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*. 2011;155:39–42.
19. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Free Radic Res*. 2006;40:1250–8.
20. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta*. 2003;329(1-2):23–38.
21. Dean RT, Fu S, Stocker R, Davies MJ. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem J*. 1997;324 Pt 1:1–18.
22. Lewisch SA, Levine RL. Determination of 2-oxohistidine by amino acid analysis. *Anal Biochem*. 1995;231:440–6.
23. Wong SH, Knight JA, Hopfer SM, Zaharia O, Leach Jr CN, Sunderman Jr FW. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid-chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem*. 1987;33 Pt 1:214–20.
24. Hsieh CC, Maisonneuve P, Boyle P, Macfarlane GJ, Robertson C. Analysis of quantitative data by quantiles in epidemiologic studies: classification according to case, noncases, or all subjects. *Epidemiology*. 1991;2:137–40.
25. Alonso-Fernández P, de la Fuente M. Immunological markers of ageing. *Rev Esp Geriatr Gerontol*. 2008;43:167–79.
26. Salmon AB, Richardson A, Pérez VI. Update on the oxidative stress theory of aging: does oxidative stress play a role in aging or healthy aging? *Free Radic Biol Med*. 2010;48:642–55.
27. El Assar M, Angulo J, Rodríguez-Mañás L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. *Free Radic Biol Med*. 2013;65:380–401.
28. Rodrigo R, Prat H, Passalacqua W, Araya J, Guichard C, Bächler JP. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res*. 2007;30:1159–67.
29. Ashfaq S, Abramson JL, Jones DP, Rhodes SD, Weintraub WS, Hooper WC, et al. The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. *J Am Coll Cardiol*. 2006;47:1005–11.
30. Yan MH, Wang X, Zhu X. Mitochondrial defects and oxidative stress in Alzheimer disease and Parkinson disease. *Free Radic Biol Med*. 2013;62:90–101.
31. Seet RC, Lee CY, Lim EC, Tan JJ, Quek AM, Chong WL, et al. Oxidative damage in Parkinson disease: Measurement using accurate biomarkers. *Free Radic Biol Med*. 2010;48:560–6.
32. Karunakaran U, Park KG. A systematic review of oxidative stress and safety of antioxidants in diabetes: focus on islets and their defense. *Diabetes Metab J*. 2013;37:106–12.
33. de M Bandeira S, da Fonseca LJ, da S Guedes G, Rabelo LA, Goulart MO, Vasconcelos SM. Oxidative stress as an underlying contributor in the development of chronic complications in diabetes mellitus. *Int J Mol Sci*. 2013;14:3265–84.
34. Frisard MI, Broussard A, Davies SS, Roberts 2nd LJ, Rood J, de Jonge L, et al. Louisiana Healthy Aging Study. Aging, resting metabolic rate, and oxidative damage: results from the Louisiana Healthy Aging Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2007;62:752–9.
35. Balbis E, Patriarca S, Furfaro AL, Cottalasso D, Pronzato MA, Carlier P, et al. Oxidative stress and antioxidant defence in a healthy nonagenarian population. *Redox Rep*. 2007;12:59–62.
36. Paolisso G, Tagliamonte MR, Rizzo MR, Manzella D, Gambardella A, Varricchio M. Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J Am Geriatr Soc*. 1998;46:833–8.
37. Andriollo-Sanchez M, Hininger-Favier I, Meunier N, Venneria E, O'Connor JM, Maiani G, et al. Age-related oxidative stress and antioxidant parameters in middle-aged and older European subjects: the ZENITH study. *Eur J Clin Nutr*. 2005;59 Suppl 2:S58–62.
38. Mecocci P, Polidori MC, Troiano L, Cherubini A, Cecchetti R, Pini G, et al. Plasma antioxidants and longevity: a study on healthy centenarians. *Free Radic Biol Med*. 2000;28:1243–8.
39. Soerensen M, Dato S, Tan Q, Thinggaard M, Kleindorp R, Beekman M, et al. Human longevity and variation in GH/IGF-1/insulin signaling, DNA damage signaling and repair and pro/antioxidant pathway genes: cross sectional and longitudinal studies. *Exp Gerontol*. 2012;47:379–87.
40. Gambino V, De Michele G, Venezia O, Migliaccio P, Dall'Olio V, Bernard L, et al. Oxidative stress activates a specific p53 transcriptional response that regulates cellular senescence and aging. *Aging Cell*. 2013;12:435–45.
41. Starr JM, Shiels PG, Harris SE, Pattie A, Pearce MS, Relton CL, et al. Oxidative stress, telomere length and biomarkers of physical aging in a cohort aged 79 years from the 1932 Scottish Mental Survey. *Mech Ageing Dev*. 2008;129:745–51.