

**“Caracterización y Análisis de Biomarcadores Moleculares:
Longitud de Telómeros y Genes asociados a la telomerasa
en el Envejecimiento Saludable en adultos mayores”**

T E S I S

Para obtener el grado de:

MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

P r e s e n t a

Biol. Exp. Maria Fernanda Resendess Turrubiates

Matricula: 2233804050

Correo electrónico: resendessfernanda2@gmail.com

Comité Tutorial

Codirector:

Dr. Osvaldo Máximo Mutchinick Baringoltz

Codirectora:

Dra. Roxana Uri Miranda Labra

Asesor:

Dr. Adolfo Aguayo Gómez

Jurado

Presidente:

Dr. Eduardo Casas Hernández

Secretaria:

Dra. Guadalupe Elizabeth Jiménez Gutiérrez

Vocal:

Dr. Julio Cesar Almanza Pérez

Vocal:

Dr. Fernando Rivera Cabrera

Iztapalapa, Ciudad de México a 4 de diciembre del 2025.



Este trabajo fue posible gracias al apoyo otorgado por la Secretaría de Educación, Ciencia, Tecnología e Innovación (SECTEI) de la Ciudad de México, a través de la Convocatoria 2024 para proyectos científicos, de desarrollo tecnológico, innovación y divulgación dirigidos a la atención de problemáticas específicas de la Ciudad de México.

La investigación se desarrolló en el marco del proyecto “Caracterización molecular, metabólica, citogenética, nutricional, sociodemográfica y psicosocial en una muestra de adultos mayores como indicadores de selección para la creación de un biobanco institucional de envejecimiento saludable” (Ref. GEN-4982-24-26-1, SECTEI/118/2024, folio 3591c24).

Asimismo, este trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de Genética Dr. Rubén Lisker Yourkowitzky del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), institución donde se realizaron el reclutamiento de los participantes, las evaluaciones clínicas, encuestas, estudios sanguíneos y los análisis moleculares correspondientes.

COMITÉ TUTORAL

CODIRECTOR

Dr. Osvaldo Máximo Mutchinick Baringoltz

Investigador Nacional Emérito

Laboratorio de Biología Molecular y Citogenética

Jefe del departamento de Genética

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

CODIRECTORA

Dra. Roxana Uri Miranda Labra

Investigador Nacional Nivel I

Laboratorio de Fisiología Celular

Departamento de Ciencias de la Salud

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa

ASESOR

Dr. Adolfo Aguayo Gómez

Médico General

Departamento de Genética

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

A lo largo de este camino, muchas personas han sido parte fundamental no solo en la realización de este proyecto, sino también en mi crecimiento como estudiante, investigadora y persona. A cada una de ellas, les dedico estas palabras con profunda gratitud.

En primer lugar, quiero agradecer sinceramente a mi director de tesis, el Dr. **Oswaldo Máximo Mutchinick**, por brindarme la oportunidad de formar parte del Departamento de Genética Rubén Lisker Yourkowitzky. Su confianza, al abrirme las puertas del laboratorio sin saber con certeza mis capacidades o conocimientos, significó un gesto invaluable. Gracias por darme un espacio para aprender, experimentar y crecer; por hacerme sentir parte de un equipo desde el primer momento, y por enseñarme que la ciencia también se construye con generosidad.

A mis asesores, el Dr. **Adolfo Aguayo Gómez**, la Dra. **Roxana Uri Miranda Labra** y la **Q.F.B. Yevgeniya Svyryd**, gracias por su apoyo constante, por su guía en la escritura de esta tesis y por compartir conmigo sus conocimientos con una disposición que siempre fue cálida y alentadora. Su acompañamiento fue una pieza clave en el desarrollo de este proyecto y en la consolidación del aprendizaje que me llevo de esta etapa. Gracias por enseñarme desde la ciencia, pero también desde la empatía, el compromiso y el respeto. En especial, agradezco profundamente a la **Q.F.B. Svyryd**, porque su apoyo fue el que más trabajo implicó: estuvo conmigo en cada uno de los experimentos, resolviendo dudas, acompañándome en cada paso dentro del laboratorio y ayudándome a superar cada obstáculo técnico o emocional que se presentaba. Su entrega y paciencia dejaron una huella invaluable en mi formación profesional y personal.

A mis compañeros del posgrado, del laboratorio, y a mis amigas y amigos que estuvieron ahí para acompañarme, escucharme, hacerme reír y recordarme que incluso en los momentos de mayor presión siempre es válido hacer una pausa. Gracias por las salidas espontáneas, las pláticas de pasillo y los abrazos en días difíciles. Su compañía fue vital para mi equilibrio emocional y para seguir adelante con entusiasmo.

Y con todo el amor que me cabe en el corazón, quiero dedicar estas líneas a mis padres: **Víctor Manuel Bruno Resendess Díaz** y **Aida Patricia Turrubiates Vargas**. Gracias por su apoyo incondicional, por su presencia constante y por ser mi mayor red de seguridad y cariño. Gracias por confiar en mí en cada paso, por acompañarme en cada decisión, por celebrar mis logros y por sostenerme cuando las fuerzas flaqueaban y estaba a punto de tirar la toalla. Este camino no habría sido posible sin su amor, su paciencia y su ejemplo de fortaleza. Son, y siempre serán, la base firme sobre la cual construyo mis sueños.

Finalizo esta etapa con la certeza de que el conocimiento no solo se encuentra en los libros o en el laboratorio, sino también en las relaciones humanas que nos transforman, y en las pequeñas moléculas que nos componen, como el ADN, donde empieza el relato más profundo y fascinante de lo que somos.

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE ESQUEMAS.....	X
ÍNDICE DE FIGURAS.....	X
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	XI
ÍNDICE DE TABLAS.....	XII
ABREVIATURAS	XIV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Esperanza de vida y envejecimiento: un desafío del siglo XXI.....	1
1.2 ¿Qué es el envejecimiento?.....	1
1.2.1 Panorama de envejecimiento demográfico global y en México.....	2
1.2.2 Características del envejecimiento	3
1.2.3 Biomarcadores del envejecimiento	4
1.3 Longitud telomérica y envejecimiento celular.....	7
1.3.1 El problema del extremo de replicación y la senescencia	8
1.3.2 La telomerasa y sus componentes.....	8
1.3.3 Regulación de hTERT	10
1.3.4 El polimorfismo MNS16A.....	11
1.4 Variantes del gen <i>MTHFR</i> y su impacto.	12
2. JUSTIFICACIÓN	18
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	19
4. HIPÓTESIS.....	19
5. OBJETIVOS.....	19
5.1 Objetivo general.....	19
5.2 Objetivos particulares	19
6. MATERIALES Y MÉTODOS	20
6.1 Diseño experimental	20
6.2 Reclutamiento de participantes.....	21
6.3 Criterios de selección	23
6.3.1 Criterios de inclusión.....	23
6.3.2 Criterios de exclusión.....	24
6.4 Operacionalización de las variables	25

6.5 Extracción de ADN a partir de sangre periférica.....	26
6.5.1 Protocolo estandarizado para extracción de ADN.....	26
6.5.2 Cuantificación de la calidad, integridad y pureza del ADN	27
6.6 Genotipificación del VNTR MNS16A en qPCR de punto final.....	28
6.7 Genotipificación de las variantes de <i>MTHFR</i> en PCR Tiempo Real	29
6.8 Estimación de longitud telomérica	31
7. RESULTADOS	32
7.1 Reclutamiento y distribución de la muestra.....	32
7.2 Aislamiento y preparación del material genético.....	33
7.3 Estimación de longitud telomérica	34
7.3.1 Validación de la calidad de los resultados de MM-qPCR.....	34
7.3.2 Obtención de la longitud telomérica relativa (T/S).....	35
7.3.3 Comparación de la estimación de la longitud de los telómeros según el sexo y el grupo etario	36
7.4 Genotipificación de <i>hTERT</i>	38
7.4.1 Resultado del análisis de fragmentos de VNTR MNS16A	38
7.4.2 Confirmación y validación de fragmentos VNTR MNS16A	39
7.4.3 Perfil genotípico de la población estudiada.....	40
7.4.4 Distribución de las frecuencias alélicas de la población estudiada	41
7.4.5 Asociación entre los genotipos de <i>hTERT</i> y la longitud telomérica	42
7.5 Genotipificación de <i>MTHFR</i> de la variante 677C>T	43
7.5.1 Validación de ensayos mediante controles positivos	43
7.5.2 Perfil alélico: gráfico de distribución.....	44
7.5.3 Distribución de genotipos por grupo etario.....	45
7.6 Genotipificación de <i>MTHFR</i> de la variante 1298A>C	46
7.6.1 Validación de ensayos mediante controles positivos	46
7.6.2 Perfil alélico: gráfico de distribución.....	47
7.6.3 Distribución de genotipos por grupo etario.....	48
7.7 Análisis de la longitud telomérica y las combinaciones genotípicas de <i>MTHFR</i> 677C>T y <i>MTHFR</i> 1298A>C.....	50
7.8 Comparación de niveles de homocisteína entre grupos de edad	51
7.8.1 Niveles de homocisteína en hombres por grupo etario	53
7.8.2 Niveles de homocisteína en mujeres por grupo etario.....	54

7.8.3 Asociación entre genotipos de MTHFR C677T y A1298C con los niveles séricos de homocisteína.....	56
7.9 Comparación de niveles de Ácido fólico entre grupos de edad	58
7.9.1 Asociación entre genotipos de MTHFR C677T y A1298C con los niveles séricos de Ácido fólico	59
7.10 Comparación de niveles de Vitamina B12 entre grupos de edad.....	60
7.10.1 Asociación entre genotipos de MTHFR C677T con los niveles séricos de Vitamina B12	61
7.10.2 Asociación entre genotipos de MTHFR A1298C con los niveles séricos de Vitamina B12	62
7.11 Asociación entre la concentración de homocisteína y los niveles séricos de vitamina B12.....	63
8. DISCUSIÓN	63
8.1 Estimación de longitud telomérica	63
8.2 Genotipificación de <i>hTERT</i>	65
8.3 Genotipificación de <i>MTHFR</i> de la variante 677C>T y 1298A>C	66
8.4 Homocisteína: comparación por edad, sexo y variantes de MTHFR	67
8.5 Ácido fólico: comparación por edad y variantes de MTHFR	68
8.6 Vitamina B12: comparación por edad y variantes de MTHFR	69
8.7 Asociación entre los niveles séricos de vitamina B12 y homocisteína	70
9. CONCLUSIÓN	70
10. REFERENCIAS.....	72
ANEXOS	84
A1 Contenido del Kit Wizard Genomic DNA Purification.....	84
A2 Concentración y volumen final de los componentes utilizados en una reacción de PCR. Para múltiples muestras, se recomienda multiplicar los volúmenes por el número total de reacciones y añadir un 10% extra como reserva.	84
A3 Condiciones de temperatura utilizadas para la PCR de genotipificación del VNTR MNS16A.	85
A4 Concentración y volumen final de la mezcla para cada reacción de separación por electroforesis capilar, por muestra.....	85
A5 Concentración y volumen final de la mezcla para la reacción de PCR correspondiente a la variante C677T del gen MTHFR.....	85
A6 Condiciones de temperatura para la PCR de genotipificación correspondiente a la variante C677T del gen MTHFR.....	86
A7 Concentración y volumen final de la mezcla para la reacción de PCR correspondiente a la variante A1298C del gen MTHFR.	86
A8 Condiciones de temperatura para la PCR de genotipificación correspondiente a la variante A1298C del gen MTHFR.....	87

A9 Concentración y volumen final de la mezcla para la reacción de PCR utilizada en el cálculo de las proporciones de señales teloméricas.	87
A10 Condiciones de temperatura empleadas en la PCR para el cálculo de las proporciones de señales teloméricas. Está ajustada para optimizar la amplificación de los fragmentos teloméricos.	88

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1 Metodología general del estudio	20
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Diagrama de las características del envejecimiento molecular, celular y sistémico. Adaptado de López-Otín, 2023.....	4
Figura 2 Ejemplos de marcadores tradicionalmente usados en los estudios de envejecimiento biológico.....	6
Figura 3 Complejo Shelterina y su unión a la región telomérica. Adaptado de Calado, R., & Young, N. (2012).....	7
Figura 4 Telómero, principales componentes del complejo Shelterina y el complejo enzimático de la telomerasa. Adaptado de Alnafakh et al. (2019).....	9
Figura 5 Ubicación cromosómica y posición del VNTR MNS16A dentro del gen hTERT, mostrando las variantes analizadas. Adaptado de la Universidad de Arizona (1996).....	11
Figura 6 Estructura común de los folatos. Adaptada de Froese et al. (2019).....	13
Figura 7 Representación esquemática de la interrelación entre el ciclo de los folatos y el ciclo de la metionina. Adaptado de Apitz-Castro (2015).....	14
Figura 8 Estructura del gen MTHFR y polimorfismos conocidos. Adaptado de Massadeh et al. (2019).....	16
Figura 9 Representación gráfica del fundamento de la técnica de determinación de LTR mediante qPCR (Adaptada de Lapham, y col., 2015).....	31
Figura 10 Curva de disociación (melting curve) obtenida mediante MM-qPCR, mostrando dos picos bien definidos correspondientes a las secuencias de telómeros (pico izquierdo) y al gen de referencia HBB (pico derecho). La presencia exclusiva de estos picos confirma.....	34
Figura 11 Electroferograma compuesto de diferentes muestras que ejemplifican las variantes detectadas en la región VNTR MNS16A. Línea azul: fragmentos amplificados; línea naranja: marcador de peso molecular GS-600.....	39
Figura 12 Región MNS16A-VNTR del gen hTERT. A. Representación esquemática de los cuatro alelos más frecuentemente detectados en este estudio. B. Fragmento del electroferograma correspondiente a secuenciación del amplificado de 333 pb de MNS16A-VNTR, variante que contiene seis repetidos de 23 pb.....	39

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1 Distribución de la longitud telomérica relativa (T/S) por grupo etario. Cada punto representa a un individuo y las cajas muestran la mediana y el rango intercuartílico. Aunque el análisis global mediante Kruskal–Wallis no fue significativo ($p = 0.072$), se realizaron comparaciones dirigidas entre pares de grupos con la prueba de Mann–Whitney. Se observó una diferencia significativa entre Grupo 30 y Grupo 60 ($p = 0.0284$), indicada con el asterisco.	36
Gráfica 2 Estimación de la longitud telomérica relativa (Relación T/S) por sexo F(femenino) y M (masculino) y grupo etario.	38
Gráfica 3 Distribución de los genotipos del VNTR MNS16A por grupo de edad (30–34, 60–64 y 70–74 años). La gráfica muestra de forma comparativa la frecuencia relativa de los genotipos SS, SL y LL, lo que permite visualizar las diferencias en su representación entre los grupos etarios analizados.	40
Gráfica 4 Curvas de amplificación representativas de los controles positivos para la variante C677T del gen MTHFR.	44
Gráfica 5 Gráfico de discriminación alélica para la variante C677T del gen MTHFR. NTC (No template control).	44
Gráfica 6 Frecuencia relativa de los genotipos CC, CT y TT de la variante C677T en los diferentes grupos de edad.	45
Gráfica 7 Curvas de amplificación representativas de los controles positivos para la variante A1298C del gen MTHFR.	47
Gráfica 8 Gráfico de discriminación alélica para la variante A1298C del gen MTHFR.	48
Gráfica 9 Frecuencia relativa de los genotipos AA, AC y CC de la variante A1298C en los diferentes grupos de edad.	48
Gráfica 10 Relación entre las combinaciones de genotipos de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C y la longitud telomérica relativa.	51
Gráfica 11 Distribución de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) entre los grupos etarios.	52
Gráfica 12 Distribución de los niveles de homocisteína en hombres por grupo etario.	54
Gráfica 13 Distribución de los niveles de homocisteína en mujeres por grupo etario.	55
Gráfica 14 Distribución de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) por genotipo del polimorfismo MTHFR C677T.	57
Gráfica 15 Distribución de los niveles de ácido fólico ($\mu\text{mol/L}$) por grupo etario.	59
Gráfica 16 Distribución de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por grupo etario.	60
Gráfica 17 Distribución de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por genotipo del polimorfismo MTHFR C677T.	61
Gráfica 18 Distribución de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por genotipo A1298C.	62
Gráfica 19 Relación entre la concentración de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) y los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por grupo etario.	63

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Descripción de algunos polimorfismos del gen MTHFR, ubicación y su impacto funcional.	15
Tabla 2 Matriz de operacionalización de variables, donde se especifica la definición operacional de cada una, así como su clasificación como cuantitativa o cualitativa.	25
Tabla 3 Características fisicoquímicas de los oligos utilizados para la amplificación del VNTR MNS16A, incluyendo su secuencia, temperatura de fusión (T _m), longitud (pb), cantidad entregada (nmoles) y peso molecular (MW).	28
Tabla 4 Se presenta la distribución final de los participantes reclutados, divididos por sexo y grupo etario. El porcentaje se calculó como $[n_{\text{reclutados}} \div n_{\text{esperados}}] \times 100$. El periodo de reclutamiento comprendido del 09/09/2024 -22/09/2025.	33
Tabla 5 Características del ADN extraído. La tabla muestra el índice de pureza del ADN (relaciones 260/280 y 260/230), el número de tubos de sangre preservados por participante (4 alícuotas), la cantidad total de ADN obtenida y la distribución de fragmentos superiores a 15 kpb.	33
Tabla 6 Resumen estadístico de la longitud telomérica relativa (T/S) por grupo etario.	35
Tabla 7 Resultados de la prueba U de Mann–Whitney para comparaciones por pares entre grupos etarios. Se considera un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$	35
Tabla 8 Resumen estadístico de la longitud telomérica relativa (T/S) por sexo y grupo etario.	37
Tabla 9 Frecuencia alélica del VNTR MNS16A en los diferentes grupos etarios. Los alelos fueron clasificados como Cortos (S: 243 y 272 pb) y Largos (L: 302 y 333 pb) de acuerdo con el tamaño de los fragmentos obtenidos por electroforesis capilar. Se muestra el número total de alelos y su frecuencia relativa (%) por grupo de edad.	41
Tabla 10 Combinaciones de fragmentos del VNTR MNS16A por grupo de edad, mostrando la frecuencia de cada combinación observada en la población analizada.	42
Tabla 11 Distribución de las variantes alélicas del polimorfismo VNTR MNS16A del gen hTERT entre los diferentes grupos.	42
Tabla 12 Relación entre los genotipos del VNTR MN16A del gen hTERT (clasificados por combinación LL, LS y SS) y la longitud telomérica relativa (Relación T/S).	43
Tabla 13 Distribución de las frecuencias alélicas (Alelo C y Alelo T) del polimorfismo MTHFR 677 entre los grupos etarios.	45
Tabla 14 Resultados de la prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg para la variante MTHFR C677T por grupo etario.	46
Tabla 15 Distribución de las frecuencias alélicas (Alelo A y Alelo C) del polimorfismo MTHFR A1298C en los grupos etarios.	49
Tabla 16 Resultados de la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg para la variante MTHFR A1298C por grupo etario.	49
Tabla 17 Medidas de tendencia central de la longitud telomérica relativa de los participantes según las combinaciones de genotipos de los polimorfismos C677T/A1298C.	50
Tabla 18 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína (μmol/L) por grupo etario.	51

Tabla 19 Comparación por pares de los niveles de homocisteína entre los grupos etarios mediante la prueba U de Mann-Whitney.	52
Tabla 20 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) en hombres por grupo etario.	53
Tabla 21 Comparaciones por pares de los niveles de homocisteína en hombres entre los grupos etarios mediante la prueba de U de Mann-Whitney.	53
Tabla 22 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) en mujeres por grupo etario.	54
Tabla 23 Comparaciones por pares de los niveles de homocisteína en mujeres entre los grupos etarios mediante la prueba de U de Mann-Whitney.	55
Tabla 24 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) por genotipo de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C.	56
Tabla 25 Comparaciones post-hoc de los niveles de homocisteína entre los genotipos de polimorfismo MTHFR C677T mediante la prueba de U de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni.	57
Tabla 26 Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los niveles de ácido fólico por grupo etario.	58
Tabla 27 Medidas de tendencia central de los niveles de ácido fólico ($\mu\text{m/L}$) por grupo etario. .	58
Tabla 28 Comparaciones por pares de los niveles de ácido fólico ($\mu\text{m/L}$) entre los grupos etarios mediante la prueba de U de Mann-Whitney.	58
Tabla 29 Medidas de tendencia central de los niveles séricos de ácido fólico ($\mu\text{m/L}$) por genotipo de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C	60
Tabla 30 Medidas de tendencia central de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por grupo etario.	60
Tabla 31 Medidas de tendencia central de los niveles séricos de vitamina B12 (pg/mL) por genotipo del polimorfismo C677T.	61
Tabla 32 Medidas de tendencia central de la Vitamina B12 (pg/mL) en función del genotipo del polimorfismo MTHFR A1298C.	62

ABREVIATURAS

Abreviatura Término

ADN	Ácido desoxirribonucleico / Deoxyribonucleic Acid
ARN	Ácido ribonucleico / Ribonucleic Acid
ARNm	ARN mensajero / Messenger RNA
CBS	Cistationina beta-sintasa / Cystathionine beta-synthase
CONAPO	Consejo Nacional de Población / National Population Council
CR4/5	Regiones conservadas 4 y 5 / Conserved Regions 4 and 5
DGE	Dirección General de Epidemiología / General Directorate of Epidemiology
DHF	Dihidrofolato / Dihydrofolate
DKC1	Disquerina / Dyskerin
dTMP	Desoxitimidina monofosfato / Deoxythymidine monophosphate
eROS	Especies reactivas de oxígeno endógenas / Endogenous Reactive Oxygen Species
FAD	Flavín adenina dinucleótido / Flavin Adenine Dinucleotide
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos / Food and Drug Administration
Flujo-FISH	Hibridación in situ fluorescente por citometría de flujo / Flow Fluorescence In Situ Hybridization
GCP II	Glutamato carboxipeptidasa II / Glutamate Carboxypeptidase II
GAR1	Proteína rica en glicina-arginina 1 / Glycine-Arginine Rich Protein 1
HMT	Histona metiltransferasa / Histone Methyltransferase
hTERT	Transcriptasa inversa de la telomerasa humana / Human Telomerase Reverse Transcriptase
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía / National Institute of Statistics and Geography
MNS16A	Variable VNTR del gen TERT / VNTR Variable of the TERT Gene
MTHFR	Metilentetrahidrofolato reductasa / Methylene tetrahydrofolate Reductase
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato / Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate

NIH	Institutos Nacionales de Salud / National Institutes of Health
NHP2	Proteína no histona 2 / Non-histone Protein 2
NOP10	Proteína nucleolar 10 / Nucleolar Protein 10
OMS	Organización Mundial de la Salud / World Health Organization
OPS	Organización Panamericana de la Salud / Pan American Health Organization
PABA	Ácido para-aminobenzoico / Para-aminobenzoic Acid
Pk/t	Dominio pseudonudo/plantilla / Pseudoknot/Template Domain
POT1	Protección de telómeros 1 / Protection of Telomeres 1
Q-FISH	Hibridación in situ fluorescente cuantitativa / Quantitative Fluorescence In Situ Hybridization
RAP1	Proteína represora/activadora 1 / Repressor/Activator Protein 1
ROS	Especies reactivas de oxígeno / Reactive Oxygen Species
SAM	S-adenosilmetionina / S-adenosylmethionine
SHMT	Serina hidroximetiltransferasa / Serine Hydroxymethyltransferase
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido / Single Nucleotide Polymorphism
TERC	Componente de ARN de la telomerasa / Telomerase RNA Component
TERT	Transcriptasa inversa de la telomerasa / Telomerase Reverse Transcriptase
THF	Tetrahidrofolato / Tetrahydrofolate
TIN2	Proteína nuclear interactuante con TRF1 2 / TRF1-interacting Nuclear Protein 2
T-loop	Bucle T / T-loop
TPP1	Proteína homóloga de displasia adrenocortical / Adrenocortical Dysplasia Protein Homolog
TRF	Fragmento terminal de restricción / Terminal Restriction Fragment
TRF1	Factor de unión a repeticiones teloméricas 1 / Telomeric Repeat-binding Factor 1
TRF2	Factor de unión a repeticiones teloméricas 2 / Telomeric Repeat-binding Factor 2
VNTR	Número variable de repeticiones en tándem / Variable Number of Tandem Repeats

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Esperanza de vida y envejecimiento: un desafío del siglo XXI

En las últimas décadas, la esperanza de vida de la población mundial ha experimentado un notable aumento. No obstante, este avance ha traído consigo nuevos desafíos, entre ellos el incremento en la prevalencia de enfermedades asociadas al envejecimiento. En este contexto, el envejecimiento se ha consolidado como un tema central en los ámbitos social y científico, impulsando numerosas investigaciones orientadas a comprender los mecanismos biológicos que se preservan o se alteran con el paso del tiempo. La biología del envejecimiento se enfoca en identificar los procesos celulares y moleculares implicados en la pérdida progresiva de la estructura y función fisiológica. Para alcanzar este objetivo, se han desarrollado estudios en una amplia gama de modelos, que van desde organismos simples como levaduras y hongos, hasta organismos más complejos como los mamíferos, incluyendo cada vez más investigaciones centradas en el ser humano (Kirkwood, 2005; Lopez-Otin et al, 2023).

1.2 ¿Qué es el envejecimiento?

El envejecimiento es un proceso multifactorial caracterizado por el deterioro progresivo de las funciones moleculares y celulares, lo que conduce a la disfunción de tejidos y órganos. Este deterioro incrementa la vulnerabilidad a enfermedades, reduce la calidad de vida en etapas avanzadas y, finalmente, aumenta el riesgo de mortalidad. Este proceso no ocurre de manera uniforme. Se considera heterogéneo porque varía entre especies, e incluso entre individuos de una misma especie, influido por factores genéticos, ambientales y de estilo de vida. Asimismo, es heterocrónico, ya que no todos los órganos y tejidos envejecen al mismo ritmo ni de forma sincronizada dentro del organismo, lo que dificulta su estudio y la identificación de patrones generalizables (Mogri et al., 2023).

Desde una perspectiva biológica, el envejecimiento implica la acumulación progresiva de daños a nivel celular, lo cual puede derivar en alteraciones tanto estructurales como funcionales (López-Otín et al., 2013). Comprender estos mecanismos representa un punto de partida clave para identificar marcadores moleculares del envejecimiento y desarrollar estrategias que promuevan una longevidad saludable.

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) en su marco de acción 2021-2030, define el envejecimiento saludable como un proceso que permite a las personas mayores mantener su capacidad funcional, autonomía y calidad de vida, abarcando aspectos físicos, mentales y sociales. Este concepto no sólo se limita a la promoción de la salud y la prevención de enfermedades, sino que también considera factores

ambientales y sociales que influyen en el proceso de envejecimiento. Desde un punto de vista molecular, el envejecimiento saludable depende de procesos clave como la reparación efectiva del ADN, la limitación del daño causado por el estrés oxidativo, el control de la senescencia celular y la preservación de la función mitocondrial. Estos mecanismos son esenciales para preservar la estabilidad genética y la homeostasis celular, favoreciendo el bienestar integral del organismo y reduciendo los efectos adversos asociados con el envejecimiento (Xu et al., 2019).

1.2.1 Panorama de envejecimiento demográfico global y en México

A nivel mundial, el envejecimiento poblacional ha avanzado de forma acelerada, marcando un cambio significativo en las dinámicas demográficas del último siglo. Las personas viven ahora más tiempo que nunca, lo que ha provocado un crecimiento sostenido en la proporción de adultos mayores. La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2023) estima que para el año 2030 una de cada seis personas en el mundo tendrá más de 60 años. Este incremento refleja una tendencia global impulsada por la disminución en las tasas de natalidad y el aumento en la esperanza de vida, configurando un cambio demográfico sin precedentes.

Este fenómeno no se limita a los países desarrollados; también es evidente en naciones de ingreso medio como México. De acuerdo con proyecciones del Consejo Nacional de Poblaciones (CONAPO) basado en el Censo 2020, en el año 2024 la población mexicana de 60 años o más sobrepasaría los 16 millones de individuos, lo que representaría más del 12% del total nacional, con un índice de envejecimiento de 35; y para el año 2050 serían > 35 millones (>24%) con un índice de 111 individuos 60+ por cada 100 menores de 15 años (CONAPO, 2025).

La esperanza de vida en la población mexicana también ha aumentado en las últimas décadas: desde 72.6 (2000) a 75.8 (2019) años en promedio para la población general (OMS, 2024). Cabe mencionar que sufrió una caída debido a la pandemia de COVID-19, con posterior recuperación. Antes de la pandemia, la esperanza de vida en México mostraba una tendencia positiva. Sin embargo, la crisis sanitaria provocó un descenso significativo en este indicador a 70.8 años, afectando especialmente a los adultos mayores y alterando la pirámide poblacional del país (DGE, 2020). No obstante, se observaron signos de recuperación post-COVID-19. La esperanza de vida alcanzó un promedio de 75.3 años en el 2024, (78.4 para las mujeres y 72.1 para los hombres) lo que refleja una estabilización progresiva tras el impacto inicial de la emergencia sanitaria. A pesar de este retroceso temporal, México continúa enfrentando un envejecimiento poblacional acelerado. Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, 2021), la proporción de personas de 60 años o más ha crecido de manera sostenida, y se espera que esta tendencia se intensifique en los próximos años (CONAPO, 2025).

Este escenario plantea desafíos importantes, particularmente en términos de preparación del sistema de salud y de la infraestructura social para atender las necesidades de una población envejecida. Las personas mayores son más propensas a desarrollar enfermedades relacionadas con la edad, como padecimientos cardiovasculares, neurodegenerativos, musculoesqueléticos y diversos tipos de cáncer, los cuales aceleran el deterioro físico y comprometen su calidad de vida (Li et al., 2021).

Actualmente, México carece de un sistema integral de atención geriátrica, ya que el país no cuenta con la infraestructura hospitalaria adecuada, centros médicos especializados ni programas de asistencia social diseñados para responder a las complejas necesidades de la población adulta mayor creciente. Esta situación representa un desafío crítico en términos de salud pública, exigiendo una planeación estratégica que permita subsanar las carencias en infraestructura y servicios. De acuerdo con los datos proporcionados por la Encuesta Nacional sobre Salud y Envejecimiento en México (ENASEM), el 62.3% de la población de 53 años y más en México reportó un estado de salud auto percibido como “regular o malo”; el porcentaje fue mayor en mujeres (67.4%) que en hombres (56.2%) Estas cifras sugieren una elevada carga de problemas de salud entre las personas cercanas a la jubilación (53-59 años) y las de 60 años o más, siendo las mujeres las más afectadas. La magnitud del porcentaje podría estar asociada, entre otros factores, al mal control de enfermedades crónicas, dolor, depresión, ansiedad, bajos ingresos, menor escolaridad y acceso desigual a los servicios de salud.

1.2.2 Características del envejecimiento

El envejecimiento ha cobrado gran relevancia en la comunidad científica, lo que ha conducido a la identificación de múltiples características celulares, moleculares y sistémicas asociadas a este proceso. En 2013, López-Otín y colaboradores sistematizaron un conjunto de rasgos distintivos del envejecimiento, integrando conocimiento acumulado por diversas líneas de investigación: senescencia celular, daño oxidativo, telómeros, proteostasis, detección de nutrientes, inflamación crónica, entre otras. En 2023, este mismo grupo actualizó y amplió dicha propuesta, estableciendo tres criterios fundamentales para considerar un rasgo o una característica como parte del envejecimiento: (i) que se manifieste de forma progresiva con la edad ; (ii) que su intensificación experimental acelere el proceso; y (iii) una modulación terapéutica permite retrasar, detener o incluso revertir los signos del envejecimiento.

Comprender este fenómeno requiere una visión integrada de los procesos moleculares, celulares y sistémicos que lo conforman. Entre las características más representativas se encuentran: inestabilidad genómica, alteraciones epigenéticas, pérdida de proteostasis, desregulación en la detección de nutrientes, disfunción mitocondrial, senescencia celular, agotamiento de células madre, alteraciones en la comunicación intercelular, inhibición de la autofagia, inflamación crónica asociada a la edad ("*inflammaging*"), disbiosis intestinal y el acortamiento de telómeros. Estas características no actúan de forma aislada: la alteración de una puede impactar directa

o indirectamente en las demás, generando una red compleja de interacciones que contribuyen al deterioro progresivo del organismo. Esta interdependencia constituye una base sólida para investigaciones orientadas al diseño de estrategias para ralentizar el envejecimiento o mitigar sus efectos biológicos (López-Otín et al., 2023).

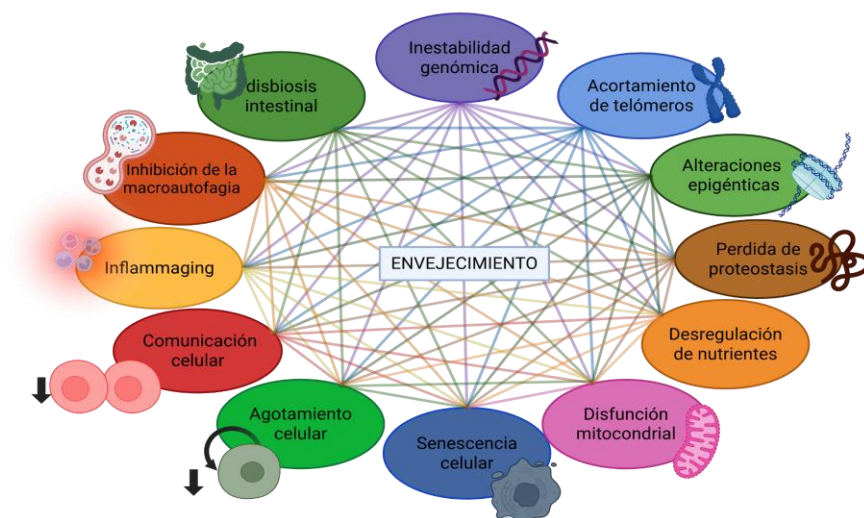


Figura 1 Diagrama de las características del envejecimiento molecular, celular y sistémico. Adaptado de López-Otín, 2023.

1.2.3 Biomarcadores del envejecimiento

Un ser humano posee dos tipos de edad: la cronológica, que es el tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual y la biológica, que refleja el estado funcional del organismo, determinado por la acumulación de daño molecular y celular. Aunque a veces coinciden, no son equivalentes: la edad cronológica no siempre refleja la edad biológica. Esta divergencia depende de factores como el estilo de vida, la genética o la exposición a ambientes adversos (Moqri et al., 2023).

Más allá de prevenir o retrasar el envejecimiento no saludable, es importante comprender cómo abordarlo de forma efectiva. La hipótesis de la gerociencia (Sierra F. y Kohanski R, 2017) plantea que, en lugar de tratar por separado enfermedades específicas asociadas con la edad (cáncer, neurodegenerativas, cardiovasculares), una estrategia más eficiente es intervenir en los procesos biológicos del envejecimiento para reducir el riesgo y la gravedad. En este contexto, los biomarcadores son herramientas esenciales para evaluar el envejecimiento a nivel biológico. Se conciben como combinación de parámetros diseñados para seguir los cambios relacionados con la edad, rastrear el proceso fisiológico del envejecimiento y detectar la transición hacia un estado patológico. Aunque la investigación en modelos animales ha generado avances, trasladar estos hallazgos a humanos sigue siendo un desafío; por ello, es crucial

desarrollar herramientas que permitan medir la acumulación de daño molecular, ya sea inducido por factores externos o derivado del deterioro asociado a la edad (Wagner et al, 2016; Bao et al, 2023).

“*Lo que no se puede medir, no se puede mejorar*” (William Thomson, lord Kelvin). De ahí la importancia de desarrollar biomarcadores viables, específicos y sensibles que permitan monitorear procesos clave del envejecimiento antes de que los cambios sean irreversibles, con el fin de implementar intervenciones preventivas y favorecer un envejecimiento saludable. Su estudio, además, ayuda a distinguir entre envejecimiento normal y patológico, e incluso anticipar la probabilidad de longevidad individual (Guerville et al., 2020).

Según el FDA-NIH *Biomarker Working Group* (2016), un biomarcador es una característica medible que indica procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas a exposiciones o intervenciones. En el contexto del envejecimiento, estos indicadores permiten obtener información sobre la fisiología y los mecanismos moleculares y celulares que reflejan la edad biológica. Para considerar confiable una característica biológica, (proteína, ácido nucleico, metabolito, etc.) como biomarcador, deben cumplirse tres propiedades: especificidad, carácter sistémico y utilidad (Bao et al., 2023).

- Especificidad: refleja con precisión los cambios relacionados con el envejecimiento a nivel de órgano específico o de todo el organismo; cada tejido envejece a un ritmo distinto, así que el biomarcador debe captar estos procesos particulares.
- Carácter sistémico: integrar cambios locales y de múltiples sistemas, ya que el envejecimiento puede iniciarse en un órgano y repercutir a nivel corporal.
- Utilidad: implica que la medición debe ser sencilla, reproducible y preferentemente no invasiva; sangre o saliva son muestras ideales por su accesibilidad.

En el caso específico del envejecimiento, los biomarcadores tienen tres funciones principales: (i) evaluar los cambios fisiológicos y funcionales asociados con la edad, (ii) rastrear los procesos de envejecimiento a nivel orgánico o celular, y (iii) predecir el momento en que un organismo transita de un estado saludable a uno patológico. Un marcador bien establecido podría, incluso, anticipar el umbral entre el envejecimiento normal y enfermedades (Wagner et al, 2016). Existe un amplio espectro de candidatos; sin embargo, muchos presentan limitaciones o están poco caracterizados (Bao et al., 2023). Dado que el envejecimiento implica un declive progresivo de funciones biológicas que afecta a la mayoría de los organismos vivos. En el ser humano, las alteraciones en vías moleculares específicas pueden reflejar deficiencias en los mecanismos subyacentes del envejecimiento, los cuales están estrechamente vinculados al desarrollo de enfermedades crónicas. No obstante, continúa siendo un desafío distinguir entre los

cambios propios del envejecimiento intrínseco y aquellos procesos patológicos potencialmente prevenibles asociados a la edad, ya que aún no existe un consenso claro sobre cómo trazar esta línea (Engelfriet et al., 2013; López-Otín, 2023).

El conocimiento sobre los biomarcadores del envejecimiento no solo permitiría predecir la esperanza de vida y diseñar estrategias para un envejecimiento saludable, sino también profundizar en la comprensión de los mecanismos biológicos que lo subyacen. Se han propuesto numerosos candidatos, y para que uno sea considerado un verdadero biomarcador del envejecimiento, debe al menos predecir la tasa de envejecimiento y monitorear procesos biológicos clave relacionados con este fenómeno (Xia et al., 2017). En los últimos años, algunos de estos candidatos han mostrado resultados prometedores, aunque muchos aún se encuentran en etapa de validación.

Engelfriet et al. (2013) y Xia et al. (2017) realizaron revisiones sistemáticas que sintetizan biomarcadores alineados con los procesos biológicos de envejecimiento en humanos: daño al ADN, epigenética, transcriptoma, metabolismo, estrés oxidativo, función mitocondrial, senescencia e inflamación (Figura 2). Dentro de estas categorías, se han propuesto diversos candidatos medibles en muestras accesibles (sangre, suero/plasma), lo que favorece su utilidad clínica. Entre los más usados se encuentra la longitud telomérica en leucocitos periféricos, que se ha utilizado como indicador del envejecimiento celular, aunque su interpretación depende del método y del contexto biológico.

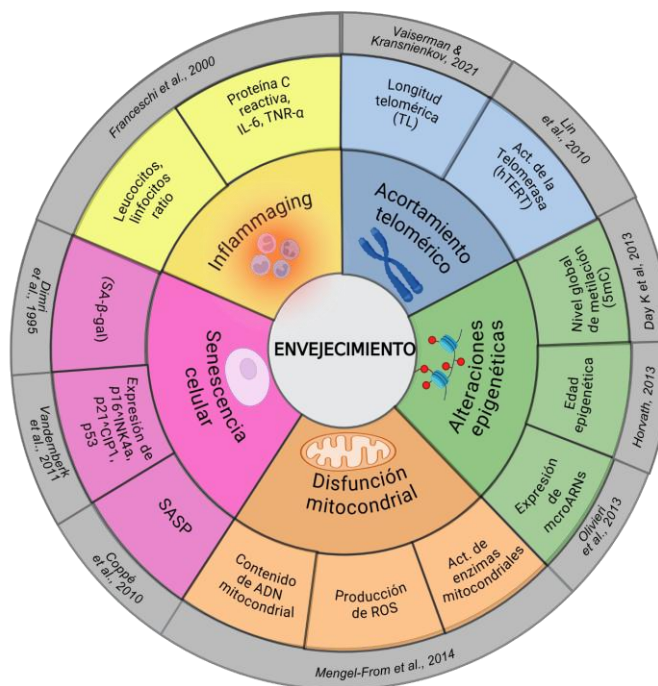


Figura 2 Ejemplos de marcadores tradicionalmente usados en los estudios de envejecimiento biológico.

1.3 Longitud telomérica y envejecimiento celular.

1.2.1 Estructura y función de los telómeros

Como se mencionó anteriormente entre los marcadores más importantes que se han llegado a analizar se encuentran los telómeros, estructuras nucleoproteínas localizadas en los extremos de los cromosomas. Estas regiones están compuestas por secuencias repetitivas de ADN no codificante en tándem cuya secuencia en humanos es TTAGGG cuyo papel es fundamental en la estabilidad genética. Los telómeros se asocian a un complejo proteico conocido como “Shelterina” el cual contribuye a mantener la estabilidad del telómero mediante la formación de una estructura en forma de lazo o bucle (conocido como bucle T) esta conformación protege a los extremos expuestos de los cromosomas lineales (de Lange, 2005; Steirner et al, 2004).

Esta protección es posible debido a que la cadena atrasada es rica en citosinas y la cadena continua es rica en G, está al finalizar es un poco más larga que la atrasada y está compuesta por repeticiones de nucleótidos monocatenarios. La literatura menciona que este extremo 3' sobresaliente interactúa con una de las regiones del ADN de doble hebra del telómero para así poder favorecer la formación del bucle T (Griffith et al, 1999).

El complejo Shelterina es fundamental para proteger los telómeros, ya que evita que sean reconocidos como ADN dañado y previene las fusiones cromosómicas, eventos que comprometería la estabilidad del genoma (Oh et al., 2018). Está conformado por seis proteínas: el factor 1 de unión a la repetición telomérica (TRF1), el factor 2 de unión a la repetición telomérica (TRF2), la proteína RAP1 (asociada a TRF2), TIN2 (factor nuclear interactuante con TRF1 y TRF2), TPP1 (homólogo de la proteína de displasia adrenocortical) y POT1 (proteína de protección de los telómeros 1) (Figura 3). Estas proteínas cumplen funciones específicas: TRF1 y TRF2 se unen a la doble hebra telomérica, mientras que POT1 reconoce el extremo 3' de cadena simple (Zhong et al., 1992; Martínez & Blasco, 2017).

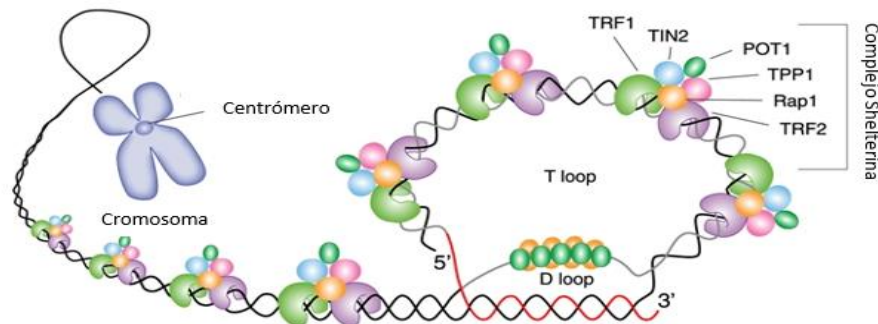


Figura 3 Complejo Shelterina y su unión a la región telomérica. Adaptado de Calado, R., & Young, N. (2012).

1.3.1 El problema del extremo de replicación y la senescencia

Sin embargo, durante la replicación de ADN, en la mayoría de las células somáticas ocurre un proceso conocido como el “problema del extremo de replicación”, propuesto por Olovnikov en 1973. Esta hipótesis plantea que, en cada división celular, se produce una ligera pérdida de ADN cromosómico del extremo de la cadena retrasada, debido a la eliminación de cebador de ARN terminal. A este fenómeno se le suman factores extrínsecos e intrínsecos, como el daño oxidativo y estrés celular, lo que contribuye a un acortamiento cromosómico progresivo y acelerado.

El estrés oxidativo es un estado en el cual se generan especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) las cuales dañan directamente al ADN telomérico, esto debido a que esta sección es altamente vulnerable debido a su alto contenido de guaninas, lo que provoca un proceso de acortamiento telomérico más rápido. Este proceso de daño se puede ver potenciado por la disfunción mitocondrial, ya que las mitocondrias son una de las fuentes principales de producción de ROS, por lo que, cuando estas se encuentran alteradas se incrementa la producción de ROS, lo que crea un círculo vicioso de daño oxidativo y pérdida telomérica (Saretzki & Von Zglinicki, 2002; Passos et al, 2007).

Estas observaciones complementan los hallazgos previos de Hayflick (1965), quien realizó experimentos con células fetales humanas, en las cuales observó que existe un número limitado de divisiones celulares posibles antes de que las células entren a un estado de senescencia. Este límite estimado entre 50 a 60 divisiones, fue denominado como el “Límite de Hayflick” o senescencia replicativa (Blasco, 2005). Durante este proceso, las células senescentes permanecen metabólicamente activas y contribuyen al envejecimiento mediante la secreción de factores proinflamatorios que afectan el microambiente tisular (Cottliar & Slavutsky, 2001).

1.3.2 La telomerasa y sus componentes

En contraste, las células germinales y algunas células madre expresan la enzima conocida como telomerasa, la cual es una transcriptasa reversa ribonucleoproteica. Esta enzima está compuesta por dos subunidades: la subunidad catalítica (TERT) y un componente de ARN (TERC) que actúa como molde para la síntesis de nuevas repeticiones teloméricas. Su función principal es añadir secuencias repetitivas de ADN telomérico al extremo 3' de los cromosomas, contrarrestando así el acortamiento progresivo de los telómeros asociados con la división celular (Oh et al., 2018).

De acuerdo con la literatura, la actividad de la telomerasa no ocurre de manera aislada, sino que depende de una compleja organización estructural y de la interacción con diversas proteínas que aseguran su correcto funcionamiento. La telomerasa presenta una arquitectura bilobulada que comparte con múltiples subunidades. Dentro de ella está TERC que constituye el núcleo catalítico, este también es conocido como



DKC1 producen disqueratosis congénita, una enfermedad caracterizada por telómeros anormalmente cortos y envejecimiento prematuro (Xu et al., 2016).

Aunque su acortamiento ocurre de manera natural, existen factores endógenos y exógenos que pueden acelerar o modular este proceso. Entre los factores exógenos destacan la edad cronológica, el sexo, la herencia genética y el equilibrio redox como se ha mencionado anteriormente.

Por otro lado, existen factores exógenos están relacionados al estilo de vida y el ambiente ya que también ejercen un papel determinante. Una alimentación equilibrada y que es rica en antioxidantes, la actividad física regular/diaria y una buena gestión del estrés se asocian con una menor tasa de acortamiento telomérico (Ludlow et al, 2008; Shamas, 2011). Sin embargo, de forma contraria la exposición al estrés, el consumo de tabaco, el alcohol, la obesidad y la privación de sueño se ha relacionado con un acortamiento acelerado de los telómeros (Epel et al, 2004; Lin et al, 2012; Astuti et al, 2017).

Finalmente, también existen los factores genéticos los cuales se encargan de modular la longitud telomérica tales como las variantes de los genes *TERT*, *TERC*, *POT1*, *MTHFR* y otros involucrados en la respuesta al estrés oxidativo o el metabolismo de folatos pueden alterar la estabilidad del ADN telomérico y la actividad de la telomerasa (Codd et al., 2013).

1.3.3 Regulación de hTERT

Entre los genes mencionados, uno de los más relevantes es TERT (Telomerase Reverse Transcriptase por sus siglas en inglés), cuya expresión constituye el principal factor limitante de la actividad de la telomerasa. La subunidad catalítica hTERT es codificada por el gen TERT, ubicado en el cromosoma 5p15.33, el cual está compuesto por 16 exones y 15 intrones, cuya regulación transcripcional y epigenética determina en gran medida la capacidad replicativa de las células y su envejecimiento. A diferencia de otros genes, el promotor carece de secuencias típicas como las cajas TATA y CAAT, pero tiene múltiples sitios de unión para factores de transcripción, lo que lo convierte en una región altamente regulable. Tras su síntesis en ciertos tipos celulares, hTERT es transportada al núcleo, donde se ensambla junto con TERC y proteínas accesorias previamente mencionadas para formar la telomerasa en su estado activo. Posteriormente se recluta el complejo Shelterina, lo que permite iniciar el proceso de elongación de los telómeros (Cong et al., 2002).

La expresión de hTERT está sujeta a la regulación multifactorial. Factores de transcripción como c-Myc, Sp1, NF-κB que actúan como activadores, mientras que Mad1 y WT1 funcionan como represores. Además, existen mecanismos epigenéticos, como la metilación de los promotores del gen *hTERT* que influye en su transcripción (Lü

MH et al, 2012). Particularmente, la región polimórfica denominada MNS16A será objeto de estudio en este proyecto debido a su relevancia en la regulación de este proceso.

1.3.4 El polimorfismo MNS16A

MNS16A es una región de repeticiones en tándem de número variable (VNTR, por sus siglas en inglés Variable Number of Tandem Repeats), localizado corriente abajo del exón 16 del gen TERT, específicamente en la región promotora del transcrito antisentido de hTERT. Esta región se caracteriza por repeticiones cuya secuencia central es de 23 pb (TCCTCTTATCTCCCAGTCTCATC) que puede presentar inserciones del triplete CAT, el cual corresponde a un sitio de unión para el factor de transcripción GATA-1. Estas inserciones modifican la longitud total del VNTR y tienen implicaciones funcionales.

En estudios de genotipificación, Wang et al. (2003) identificaron cuatro variantes de tamaño: 243, 274, 302 y 333 pb. Posteriormente, en cáncer colorrectal y de próstata, Hofer et al. (2011, 2013) reportaron dos variantes adicionales: 212 y 364 pb. Estas variantes se agrupan en dos categorías:

VNTR cortos (S): 212, 243, 274 pb

VNTR largos (L): 302, 333, 364 pb

La variante L-302 es la más prevalente en diversas poblaciones humanas.

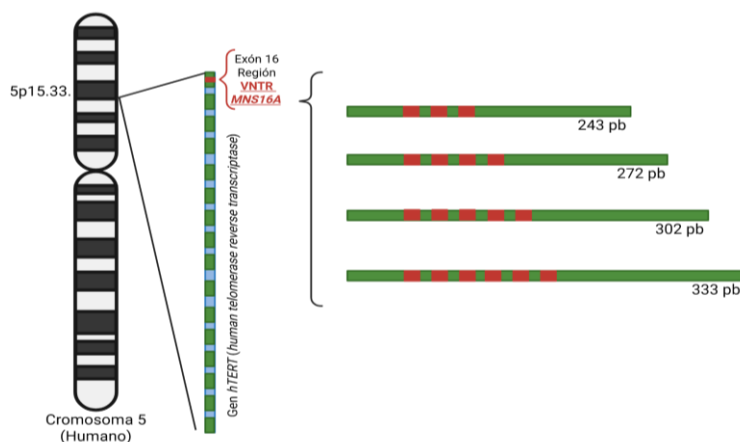


Figura 5 Ubicación cromosómica y posición del VNTR MNS16A dentro del gen hTERT, mostrando las variantes analizadas. Adaptado de la Universidad de Arizona (1996).

La longitud del VNTR influye directamente en la actividad promotora de hTERT. Ensayos de luciferasa han demostrado que los VNTR cortos presentan mayor actividad promotora que los largos, mostrando una relación inversa entre el tamaño del fragmento y la capacidad de inducir transcripción. En líneas A-427 y LNCaP todos los VNTR fueron activos, mientras que en SW480 los VNTR largos—particularmente el de 364 pb—no mostraron actividad significativa (Hofer et al., 2017).

Desde el punto de vista funcional, esta variabilidad modula la expresión de TERT, afectando la longitud telomérica y la capacidad proliferativa celular. En general, la variante S se asocia con mayor actividad de telomerasa, favoreciendo el mantenimiento telomérico y la estabilidad genética; mientras que la variante L se relaciona con menor actividad, acortamiento telomérico acelerado y envejecimiento celular (Xia et al., 2013).

Dado que MNS16A influye directamente en la regulación transcripcional de hTERT, sus variantes pueden modificar la actividad de la telomerasa y, en consecuencia, provocar tener efectos duales como contribuir a la estabilidad genómica y regeneración tisular, particularmente en células madre, o favorecer proliferación descontrolada y tumorigenesis, así como envejecimiento prematuro cuando el acortamiento telomérico es excesivo (Anwar et al., 2021).

1.4 Variantes del gen *MTHFR* y su impacto.

Además de los mecanismos directamente relacionados con la dinámica de los telómeros, el envejecimiento celular no depende de un único mecanismo molecular, sino que también se ve influido por diversas rutas metabólicas que afectan la estabilidad genómica y la metilación del ADN.

Se ha demostrado que niveles elevados de homocisteína inducen estrés oxidativo al generar especies reactivas de oxígeno (eROS), las cuales dañan el ADN — incluyendo los telómeros—, comprometiendo su estabilidad e integridad, y, en casos extremos, activando procesos de apoptosis (Sánchez et al., 2008).

Esta condición, conocida como hiperhomocisteinemia (definida por concentraciones plasmáticas elevadas de homocisteína) puede originarse tanto por deficiencias nutricionales como por mutaciones en enzimas clave del metabolismo del folato, tales como metilentetrahidrofolato reductasa (*MTHFR*), cistationina beta-sintasa (*CBS*) e histona metiltransferasa (*HMT*) (Soberón et al., 2004; González-Devia & Mendieta-Zerón, 2013).

En este contexto, el metabolismo de un carbono, también conocido como ciclo de folatos, cobra una relevancia crucial. Se trata de una ruta metabólica esencial que permite la transferencia de unidades de carbono en forma de grupos metilo ($-\text{CH}_3$), con dos principales destinos: la síntesis de purinas y timidinas, necesarias para la formación de ADN y ARN, y la remetilación de la homocisteína. A diferencia de organismos como plantas, bacterias y levaduras, que pueden sintetizar sus propios folatos, los mamíferos, incluidos los humanos, deben obtenerlos a partir de la dieta (Ducker & Rabinowitz, 2017).

Los folatos, descubiertos en 1931 por Lucy Wills, comprenden una familia de compuestos que incluye el ácido fólico y sus derivados (formas dihidro, tetrahidro, metil y formilo), todos con funciones metabólicas distintas (Shulpekova et al., 2021). Comparten una estructura compuesta por tres regiones: un anillo de pteridina ($\text{C}_6\text{H}_4\text{N}_4$),

un residuo de ácido para-aminobenzoico (PABA) y una cadena de poliglutamato, la cual facilita su retención intracelular (Figura 6) (Ducker & Rabinowitz, 2017).

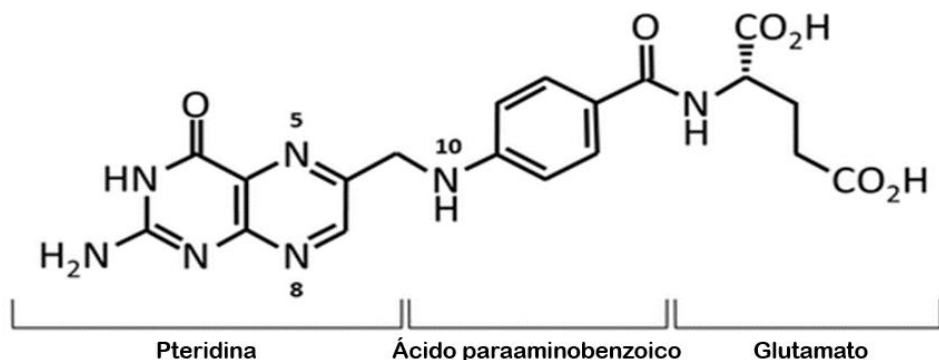


Figura 6 Estructura común de los folatos. Adaptada de Froese et al. (2019).

Dado que el organismo humano no puede sintetizar folatos, estos deben obtenerse mediante la alimentación. Entre los alimentos más ricos se encuentran el hígado de res, espinacas, guisantes, arroz blanco, espárragos, coles de Bruselas, lechuga romana, aguacate y brócoli (Shulpekova et al., 2021). En el cuerpo, los folatos están presentes en su forma biológicamente activa, el tetrahidrofolato (THF), que desempeña un papel central en el metabolismo celular.

En los alimentos, los folatos se presentan principalmente como poliglutamatos, los cuales son hidrolizados en el intestino por la enzima glutamato carboxipeptidasa II (GCP II), convirtiéndose en monoglutamatos, la forma biodisponible junto con el ácido fólico. Esta absorción ocurre principalmente en el duodeno y el yeyuno proximal (Shulpekova et al., 2021). Una vez en el enterocito, el transporte está mediado por un transportador acoplado a protones. Posteriormente, los monoglutamatos se transforman nuevamente en poliglutamatos, y el folato se reduce sucesivamente a dihidrofolato (DHF) y luego a THF por acción de la dihidrofolato reductasa (DHFR) (Vidmar et al., 2019).

El THF, en su forma activa, puede seguir diferentes rutas: participar en la síntesis de purinas, convertirse en 5,10-metilen-THF mediante la serina hidroximetiltransferasa (SHMT), o transformarse en 5-metil-THF por acción de la metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR), contribuyendo así a la remetilación de la homocisteína a metionina. Esta última da origen a la S-adenosilmetionina (SAM), el principal donador de grupos metilo del organismo, esencial para la metilación de ADN, ARN, histonas y otras proteínas (Vidmar et al., 2019).

La MTHFR, codificada en el cromosoma 1p36.3, es una enzima clave del ciclo de los folatos, encargada de la conversión del 5,10-metilentetrahidrofolato (5,10-metilen-THF) en 5-metiltetrahidrofolato (5-metil-THF). Esta flavoproteína de 656 aminoácidos presenta una organización de múltiples dominios que permite que su función sea eficiente: su extremo N-terminal contiene una secuencia rica en serina de 35

aminoácidos, seguida de un dominio catalítico tipo barril $\beta 8\alpha 8$ (TIM) que constituye el sitio de unión para el cofactor FAD (cofactor dependiente) responsable de la reducción de NADPH para generar al 5-metil-THF. Esta molécula actúa como sustrato para la metilación de la homocisteína a metionina, catalizada por la metionina sintasa con la vitamina B12 como coenzima permitiendo la síntesis de aminoácidos, purinas, desoxitimidina monofosfato (dTMP), creatina, epinefrina y la metilación de ADN y proteínas. El dominio regulador C-terminal, que se une a la S-adenosilmetionina (SAM), provocando una inhibición alostérica de la actividad enzimática y contribuyendo así a la regulación del metabolismo de un carbono (Araszkiewicz et al 2025; Froese et al, 2018, 2019).

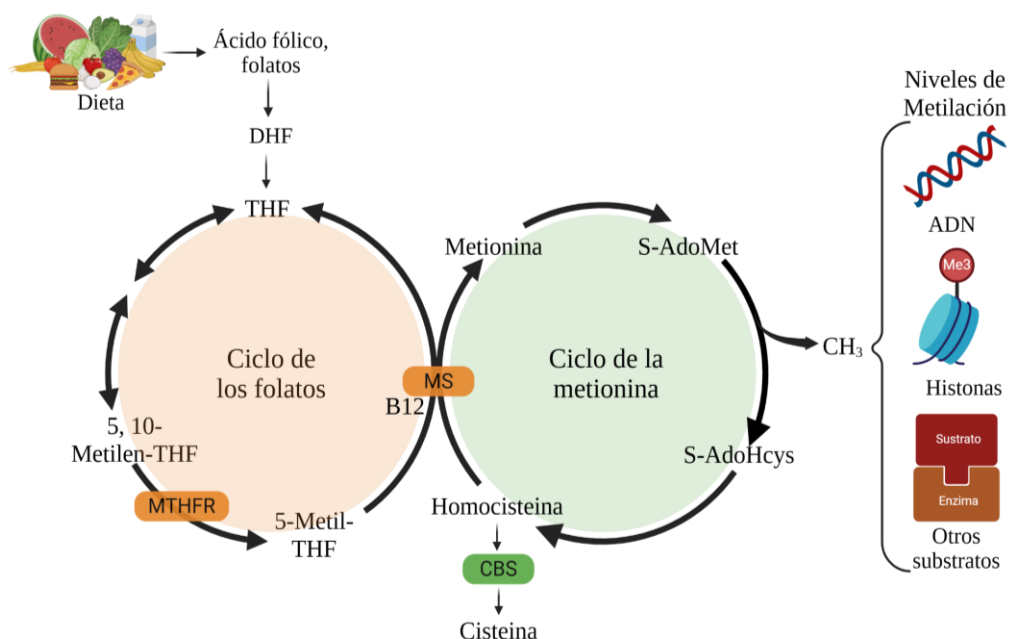


Figura 7 Representación esquemática de la interrelación entre el ciclo de los folatos y el ciclo de la metionina. Adaptado de Apitz-Castro (2015).

Hasta la fecha, se han identificado alrededor de 247 polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en el gen MTHFR, de los cuales 34 corresponden a variantes raras asociadas con deficiencia grave de la enzima. Entre ellas destacan las mutaciones 559C>T (dominio catalítico), 1084C>T (región enlazadora) y 1762A>T (dominio regulador), todas vinculadas a una reducción drástica de la actividad enzimática. Sin embargo, aún no se comprende completamente si la deficiencia deriva de una menor traducción de la enzima o de una degradación acelerada del ARNm. El conocimiento sigue limitado por el escaso número de casos clínicos reportados (Leclerc et al., 2013; Malhi et al., 2023).

Polimorfismo	SNP	Localización	Efecto	Referencia
677 C > T (rs1801133)	C→T (Ala222Val)	Exón 4	disminuye la actividad enzimática ~70% en TT. Aumenta homocisteína y reduce 5-MTHF	Frosst et al, 1995
1298 A > C (rs1801131)	A→C (Glu429Ala)	Exón 7	Disminuye moderadamente la actividad enzimática ~40%, no afecta directamente niveles de homocisteína.	Van der Put, 1998
1317 T > C (rs2066470)	T→C (Ile439Thr)	Exón 8	Asociado a ligeras variaciones en la estabilidad térmica de la enzima.	Zhong et al, 2022
1793 G > A (rs2274976)	G→A (Arg594Gln)	Exón 11	Posible reducción en la afinidad de unión al cofactor FAD.	Nilsson et al, 2014
484 C > T (rs13306561)	C→T (Región promotora)	Promotor	Asociado con menor expresión génica de MTHFR y menor actividad enzimática.	Bahari et al, 2016
559 C > T (sin rsID reportado)	C→T (Arg186Cys)	Exón 4	Provoca una reducción drástica de la actividad enzimática.	Leclerc et al, 2013
1084 C > T (sin rsID reportado)	C→T (Ala362Val)	Exón 6	Reduce significativamente la estabilidad estructural de la enzima.	Leclerc et al, 2013
1762 A > T (sin rsID reportado)	A→T (Ile588Phe)	Exón 11	Asociada a disminución drástica de la actividad enzimática.	Leclerc et al, 2013

Tabla 1 Descripción de algunos polimorfismos del gen MTHFR, ubicación y su impacto funcional.

Las manifestaciones clínicas asociadas a la deficiencia de MTHFR incluyen hiperhomocisteinemia y homocistinuria, esta última causada por deficiencia de CBS, caracterizada por acumulación de homocisteína y su excreción excesiva en orina. Estos trastornos se asocian con neuropatía periférica, retraso del desarrollo, hipotonía, convulsiones y trombosis (Rosenblatt et al., 1995). En contraste, deficiencias leves se asocian con hiperhomocisteinemia moderada (Kang et al., 1991).

Durante las últimas décadas, dos polimorfismos del gen MTHFR han adquirido especial relevancia: 677C>T y 1298A>C, al ser los más frecuentes en la población. Los SNPs son sustituciones de una sola base del ADN que generan variaciones genéticas entre individuos. Dependiendo de su localización y del tipo de cambio, pueden modificar la estructura y función de la proteína codificada.

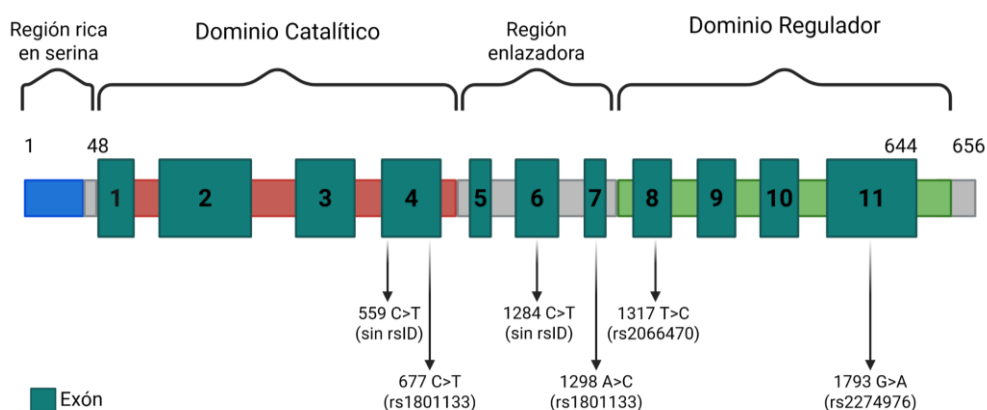


Figura 8 Estructura del gen MTHFR y polimorfismos conocidos. Adaptado de Massadeh et al. (2019).

El SNP 677C>T es el más estudiado debido a su alta prevalencia. Corresponde a la sustitución de una citosina por una timina en el exón 4, que provoca el reemplazo de alanina por valina en la posición 222 del dominio catalítico. Este cambio aumenta la hidrofobicidad local, disminuye la afinidad por el FAD y reduce la estabilidad cuaternaria (Pejchal et al., 2006). Como resultado, la enzima se vuelve termolábil, con una reducción de la actividad al 65% en heterocigotos (CT) y al 30% en homocigotos (TT), en comparación con el genotipo silvestre (CC) (Frosst et al., 1995). Esta pérdida de función se asocia con hiperhomocisteinemia, un factor de riesgo para enfermedades cardiovasculares y defectos del tubo neural (Morales del Marchín et al., 2015).

En poblaciones francocanadienses, Frosst et al. (1995) reportaron frecuencias de CC 12%, CT 51% y TT 37%, mientras que en la población mexicana mestiza Contreras-Cubas et al. (2016) informaron CC 23%, CT 51% y TT 26%, diferencias atribuibles a factores étnicos y geográficos.

El SNP 1298 A>C implica la sustitución de una adenina por una citosina en el exón 7, produciendo un cambio de glutamato a alanina en el dominio regulador (Yamada et al., 2001). A diferencia del 677C>T, no genera termolabilidad ni altera la unión del FAD;

sin embargo, modifica la conformación del dominio regulador, impidiendo la unión de SAM y su retroalimentación negativa sobre la enzima (Ravaei et al., 2023).

En la población mexicana mestiza, este polimorfismo es menos frecuente: AA 74%, AC 24%, CC 2% (Contreras-Cubas et al., 2016). Su efecto aislado es menor que el del 677C>T; según Wiik et al. (2023), la actividad enzimática disminuye a 90% en heterocigotos y 70% en homocigotos. Aun así, se ha relacionado con defectos del tubo neural y otras patologías con menor fuerza de asociación (Xia et al., 2014).

Cuando se presenta el polimorfismo 677C>T de manera aislada, se reduce la actividad enzimática y la estabilidad térmica de MTHFR, elevando los niveles de homocisteína. Por su parte, el polimorfismo 1298A>C provoca un efecto leve de los niveles de homocisteína. Sin embargo, la presencia combinada de ambos polimorfismos puede agravar la disfunción enzimática, aumentando su relevancia clínica. Este fenómeno se conoce como la doble heterocigosidad o heterocigosidad compuesta. La literatura indica que, cuando estas variantes coexisten, se presenta un perfil similar al homocigoto 677TT, en los cuales la actividad de la enzima se reduce sólo al 30% provocando mayores niveles de homocisteína, menores concentraciones de folato y un riesgo moderado a defectos del tubo neural, aunque sin significación estadística contundente debido al tamaño reducido de las muestras (Van der Put et al., 1998).

En consecuencia, las alteraciones derivadas de los SNPs *MTHFR* y en el ciclo de la metionina tienen implicaciones importantes para la metilación del ADN, un proceso epigenético fundamental que regula la expresión génica, incluyendo regiones subteloméricas. Estas regiones, ricas en islas CpG, muestran una correlación positiva entre su grado de metilación y la longitud de los telómeros. Por tanto, una disfunción en estas rutas metabólicas puede reducir la disponibilidad de grupos metilo, afectar la integridad telomérica, acelerar el envejecimiento celular y aumentar el riesgo de enfermedades relacionadas con la edad (Manivel, 2021; Buxton et al., 2014; Choudhury, 2016).

En este sentido, la identificación de biomarcadores moleculares relacionados con el envejecimiento celular, como los abordados en este proyecto, podría tener un impacto relevante en la práctica clínica. La evaluación del acortamiento telomérico, de las variantes genéticas de las enzimas implicadas en su mantenimiento como hTERT y los polimorfismos en genes claves en el ciclo de los folatos como MTHFR 677C>T y 1298A>C, constituyen un eje fundamental para la identificación de posibles biomarcadores en poblaciones genéticamente diversas como la mexicana. La evaluación de estos indicadores podría permitir detectar predisposición genética a enfermedades asociadas con la edad, facilitar diagnósticos tempranos, ofrecer pronósticos más precisos y abrir nuevas posibilidades para el desarrollo de terapias dirigidas que optimicen la función de las rutas metabólicas implicadas. Su estudio resulta esencial no sólo para comprender los mecanismos moleculares que sustentan el envejecimiento saludable, sino también para evaluar cómo estos procesos se manifiestan en distintos

contextos genéticos, aportando información clave para la identificación de perfiles moleculares del envejecimiento y su potencial aplicación clínica. Sin embargo, aún se desconoce si existen diferencias moleculares asociadas con el envejecimiento saludable en la población mexicana, lo que constituye la principal brecha de conocimiento que este estudio busca abordar.

2. JUSTIFICACIÓN

La transición demográfica actual ha dado lugar a una población con una mayor esperanza de vida. Sin embargo, este incremento en la longevidad no siempre se acompaña de una buena calidad de salud, lo cual representa un desafío significativo para la ciencia y la medicina. En épocas anteriores, la esperanza de vida era considerablemente menor debido a las altas tasas de mortalidad por enfermedades infecciosas, especialmente en edades tempranas. Gracias al desarrollo de vacunas, antibióticos y otras intervenciones médicas, estas enfermedades han sido en gran medida controladas, permitiendo que un mayor número de personas alcancen edades avanzadas.

En este nuevo contexto, el objetivo principal ya no es únicamente prolongar la vida, sino favorecer un envejecimiento saludable. Para ello, resulta fundamental comprender los mecanismos biológicos que subyacen al proceso de envejecimiento, particularmente en organismos o individuos que presentan características asociadas a un envejecimiento exitoso. En este sentido, el desarrollo y validación de biomarcadores específicos que permitan identificar y evaluar los cambios moleculares relacionados con la edad constituyen un paso crucial. Estos marcadores no sólo facilitarán el diagnóstico temprano de alteraciones asociadas al envejecimiento, sino que también permitirán diseñar estrategias de intervención más efectivas para promover una mejor calidad de vida en la vejez.

No obstante, México es un país con escasez de estudios que integren tanto indicadores moleculares del envejecimiento como lo es la longitud de los telómeros, las variantes de hTERT y variantes genéticas implicadas en el metabolismo de folatos como el gen, MTHFR. Esta falta de conocimiento limita la comprensión de los factores de tipo genéticos y metabólicos que podrían influir en el mantenimiento de la integridad genómica y, por ende, en un envejecimiento saludable. Es por eso que este estudio tiene como finalidad poder aportar evidencia sobre la relación de estas variantes y marcadores biológicos del envejecimiento en la población mexicana.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existen diferencias en la longitud relativa de los telómeros y en las variantes genéticas asociadas a la telomerasa y al metabolismo del ácido fólico entre adultos mayores (≥ 60 años) con envejecimiento saludable y un grupo de referencia de adultos jóvenes (30-34 años)?

4. HIPÓTESIS

El análisis de la longitud relativa de los telómeros y de las variantes genéticas asociadas a la telomerasa (*hTERT*) y al metabolismo del ácido fólico (*MTHF*) permitirá determinar si los adultos mayores con envejecimiento saludable (≥ 60 años) presentan una mayor longitud telomérica y una distribución diferencial de dichas variantes, asociadas con un metabolismo del folato más eficiente, en comparación con adultos jóvenes de referencia (30-34 años).

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

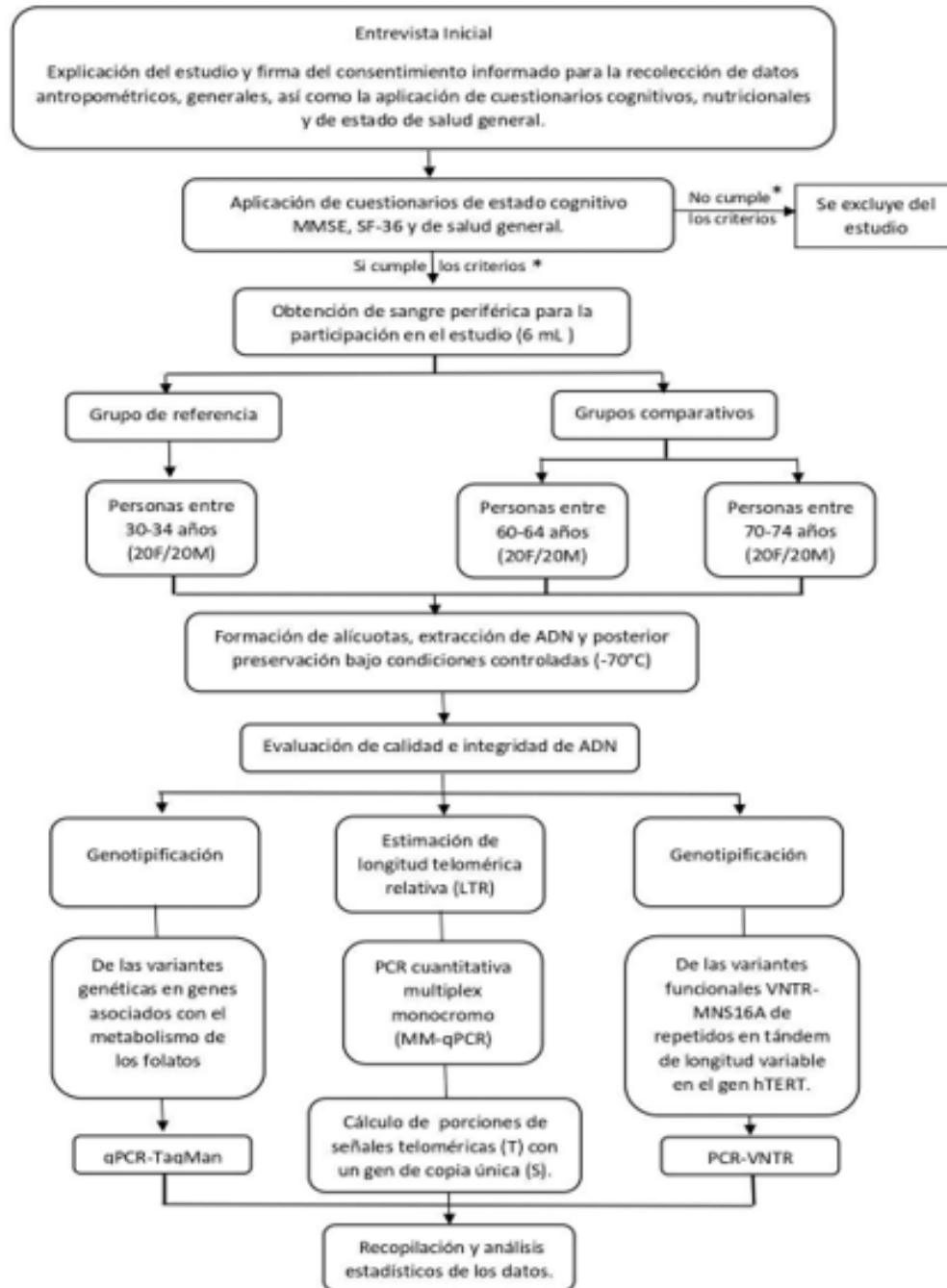
Analizar y caracterizar los biomarcadores moleculares en muestras de adultos mayores con envejecimiento saludable, estratificadas por décadas de edad, y compararlos tanto entre sí como con un grupo de adultos jóvenes de referencia.

5.2 Objetivos particulares

1. Comparar la longitud relativa de los telómeros entre los grupos de adultos mayores y el grupo de adultos jóvenes utilizando la proporción T(telómero)/S(genes de copia única).
2. Identificar las diferencias en la composición genética de la región VNTR MNS16A, ubicada en el promotor del transcrito antisentido del gen *hTERT*.
3. Determinar la genotipificación de las variantes 677C>T (rs1801133) y 1298A>C (rs1801131) del gen metilentetrahidrofolato reductasa (*MTHFR*).

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Diseño experimental



*Criterios de inclusión y exclusión en apartado 6.3

Esquema 1 Metodología general del estudio

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación y el Comité de Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, bajo el código GEN-4982-24-26-1.

El reclutamiento comenzó con una entrevista, realizada por las médicas genetistas del Departamento de Genética del INCMNSZ. En esta entrevista se explicó de manera detallada el objetivo del estudio y las actividades previstas, y se aplicaron cuestionarios orientados en aspectos cognitivos y de salud general, los cuales permitieron obtener información relevante, incluidos datos antropométricos y generales del participante para conocer el estado de salud físico y mental. Asimismo, se les presentó una carta de consentimiento informado, en la que se especificó que los datos recabados fueron utilizados exclusivamente para los fines del presente estudio y, en su caso, para estudios posteriores relacionados.

En caso de que el participante no cumpliera con los criterios de inclusión y exclusión establecidos (descritos en el siguiente apartado), se le informó de su no elegibilidad y se procedió a la destrucción de toda la información recopilada hasta ese momento. Si el participante cumplía con los criterios y aceptaba formar parte del estudio, se procedió a la toma de muestra sanguínea para la extracción de ADN, con el propósito de emplearlo en técnicas de biología molecular.

6.2 Reclutamiento de participantes

La difusión del estudio se realizó principalmente a través de un video informativo, en el que se invitó a personas adultas mayores que cumplieran con los criterios de inclusión (véase apartado 6.3) a participar en el proyecto sobre envejecimiento saludable. Este video fue distribuido mediante redes sociales como Facebook, Instagram y WhatsApp, con el objetivo de alcanzar a un mayor número de personas interesadas. Adicionalmente, se elaboraron trípticos impresos con el mismo contenido del video, para facilitar una difusión presencial, especialmente entre personas que cumplieran con el perfil requerido y que podrían no tener acceso a medios digitales.

Los participantes del estudio se distribuyeron en grupos definidos por la edad y balanceados por sexo:

- Grupo de comparación: 40 adultos jóvenes de entre 30 y 34 años, con distribución equitativa de género (20 hombres y 20 mujeres).
- Grupos de estudio: Dos subgrupos, cada uno integrado por 40 adultos mayores saludables (20 hombres y 20 mujeres) en los siguientes rangos de edad:
 - 60 a 64 años
 - 70 a 74 años

Los participantes seleccionados se agruparon de acuerdo con criterios poblacionales y epidemiológicos. Se ha definido que adulto joven son personas que se encuentran entre sus 25-44 años, en concordancia con la clasificación del Consejo Nacional de la población (CONAPO, 2010). Por otro lado, se considera adulto mayor a personas de 60 años o más, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2002) y organismos internacionales para estudios sobre envejecimiento. Esta categorización nos permitirá poder comparar grupos de edad diferentes. Además, la literatura sobre longitud telomérica ha mostrado diferencias consistentes y estadísticamente significativas entre jóvenes y adultos mayores a nivel poblacional, incluyendo metaanálisis que describen la relación no lineal y la disminución de la longitud telomérica a lo largo de la vida, así como estimaciones de la tasa de acortamiento por año, por lo que esto respalda la capacidad del biomarcador para distinguir entre grupos etarios con la resolución utilizada en este estudio (Nawrot et al., 2010; Chen et al., 2021; Ye et al., 2023).

Debido a los criterios de inclusión y exclusión, se contempló cierta flexibilidad en la selección de participantes, permitiendo la inclusión de personas que se encontraran hasta un año por debajo o por encima del rango de edad establecido. Esta consideración tuvo como objetivo mantener la coherencia del grupo etario sin comprometer la validez del estudio, al mismo tiempo que favoreció una mayor representatividad y número de participantes.

En total, fueron reclutados 115 de los 120 participantes esperados, distribuidos entre los tres grupos etarios.

Los participantes seleccionados fueron contactados previamente y se les agendó una cita para acudir al Departamento de Genética del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, ubicado en Vasco de Quiroga 15, Belisario Domínguez Sección 16, Tlalpan, 14080, Ciudad de México, CDMX.

Durante su visita, se les proporcionó información detallada sobre el proyecto y se resolvieron todas sus dudas. Posteriormente, se procedió a la firma del consentimiento informado. Una vez confirmada su participación, se aplicaron cuestionarios orientados a evaluar el estado de salud física y mental, así como la calidad del sueño y el estado nutricional. Finalmente, se realizó la toma de muestra sanguínea para su posterior análisis molecular.

Entre los cuestionarios aplicados se encontraban:

- **Cuestionario de evaluación SF-36:**

Este cuestionario consta de 36 ítems organizados en ocho subescalas que evalúan diferentes dimensiones de la salud, como funcionamiento físico, limitaciones por dolor, energía/vitalidad, salud mental, entre otras. Se utiliza para medir la calidad de vida relacionada con la salud de los adultos mayores, y en este estudio se

seleccionarán aquellos con puntuaciones por encima del percentil 50, lo que indica un bienestar físico y mental superior al promedio.

- **Mini-Mental State Examination (MMSE):**

Es una herramienta breve para evaluar el deterioro cognitivo mediante 30 preguntas que cubren áreas como orientación, memoria, lenguaje y habilidades visio-constructivas. La puntuación total va de 0 a 30, y un puntaje de 27 o menos indica un posible deterioro cognitivo.

- **Valoración geriátrica integral:**

Se recopilaron datos sociodemográficos, antecedentes de tabaquismo, consumo de alcohol, diagnósticos preexistentes y uso de fármacos (como metformina, estatinas, fibratos, etc). Incluye evaluación del estado funcional, del estado de ánimo y la movilidad, así como de exámenes físicos realizada por personal médico especialista y se recolectarán peso y talla para el posterior cálculo del índice de masa corporal, consignado dentro de la Encuesta Clínico-Genética

- **Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (CFCA):**

Este cuestionario semicuantitativo se utiliza para evaluar la frecuencia de consumo de alimentos y estimar la ingesta diaria de energía, macronutrientes y micronutrientes. Está validado para su uso en la población mexicana y proporciona información sobre los hábitos alimenticios y el estado nutricional de los participantes.

- **Mini-Nutritional Assessment (MNA):**

El MNA es una herramienta de cribado diseñada para identificar a individuos en riesgo de desnutrición o aquellos que ya presentan desnutrición establecida. Evalúa diversos factores relacionados con el estado nutricional, tales como la reducción en la ingesta de alimentos, pérdida de peso, índice de masa corporal (IMC), circunferencia braquial y de pantorrilla, así como el patrón de alimentación y la frecuencia de las comidas diarias, entre otros.

6.3 Criterios de selección

6.3.1 Criterios de inclusión

6.3.1.1 GRUPO DE ADULTOS MAYORES SALUDABLES 60+:

- Edad: 60 años o más (60 +)
- Estado de Salud: autoreporte de buen estado de salud general, definido por la ausencia de enfermedades crónicas, como enfermedad coronaria, hipertensión, diabetes, accidente cerebrovascular, enfermedad neuromuscular, enfermedad renal crónica, enfermedad autoinmune o cáncer.

- Origen Étnico: los cuatro abuelos nacidos en México.
- Firma de Consentimiento Informado: aceptación de participar en el estudio después de recibir y comprender información detallada sobre los objetivos del estudio, los procedimientos, los posibles beneficios y riesgos, así como sus derechos, incluyendo la confidencialidad de los datos y la libertad de retirarse del estudio en cualquier momento.

6.3.1.2 GRUPO DE ADULTOS JÓVENES 30-34:

- Edad: Se incluyeron personas entre 30 y 34 años.
- Estado de Salud: Presentaban buen estado de salud general sin diagnóstico de enfermedades crónicas.
- Origen y Residencia: Habían nacido y residían en México, con padres y abuelos mexicanos.
- Sin factores de riesgo para enfermedades crónicas, como consumo excesivo de alcohol, tabaquismo o abuso de sustancias tóxicas

6.3.2 Criterios de exclusión

6.3.2.1 GRUPO DE ADULTOS MAYORES SALUDABLES 60+ :

Para el grupo de adultos mayores de 60+ se excluyen participantes con:

- Participantes con alguna enfermedad crónica grave no considerada en los criterios de inclusión.
- Uso de medicamentos con efectos en el sistema nervioso central (alcaloides y derivados).
- Mujeres embarazadas o en etapa de lactancia.

Criterios de eliminación:

- Cualquier hallazgo clínico, bioquímico o citogenético identificado durante el estudio que sugiera una condición de salud no diagnosticada previamente y que pueda representar enfermedad activa o interferir con la interpretación de los resultados, constituirá motivo de exclusión.

6.4 Operacionalización de las variables

Variables	Definición operacional	Tipo
Edad	Años cumplidos al momento de la recolección de la información	Cuantitativa continua y cuantitativa ordinal
Sexo	Lo observado durante el interrogatorio directo	Cualitativa nominal
IMC	Se define como el resultado del peso en kilogramos entre la altura en metros cuadrados	Cuantitativa continua
Peso	Se define como la masa del cuerpo medida en kilogramos	Cuantitativa continua
Frecuencia Alélica	Número de veces que se detecta una variante génica específica (alelo) en un grupo de individuos.	Cuantitativa continua
Frecuencia genotípica	Número de veces que se detecta una combinación específica de dos alelos en un grupo de individuos.	Cuantitativa continua
Frecuencias alélicas y genotípicas de las variantes génicas (VNTR-MNS16A, rs1801133 y rs1801131)	Tipo de variantes obtenidas por medio del diagnóstico molecular por el método de discriminación alélica PCR-VNTR y qPCR-Taqman	Cualitativa nominal
Homocisteína	Niveles de homocisteína en sangre. Valores de referencia del laboratorio central INCMNSZ Mujeres < 10.40 $\mu\text{mol/L}$ Hombres < 11.40 $\mu\text{mol/L}$	Cuantitativa continua
Ácido fólico	Niveles de ácido fólico en sangre. Valores de referencia del laboratorio central INCMNSZ Mujeres y Hombres 3.1-20.5 ng/mL	Cuantitativa continua
Vitamina B12	Niveles de Vitamina B12 en sangre. Valores de referencia del laboratorio central INCMNSZ Mujeres y Hombres 187-883 ng/mL	Cuantitativa continua
Longitud Telomérica Relativa	Es la relación T/S, normalizada al ADN calibrador, calculada comparando el nivel de ADN telomérico (T) con el gen de beta-globina de copia única (S) en ADN genómico derivado de sangre venosa mediante PCR cuantitativa en tiempo real.	Cuantitativa continua

Tabla 2 Matriz de operacionalización de variables, donde se especifica la definición operacional de cada una, así como su clasificación como cuantitativa o cualitativa.

6.5 Extracción de ADN a partir de sangre periférica

Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos Vacutainer con EDTA de 6 mL. El uso de EDTA como anticoagulante es fundamental en estudios genéticos, ya que previene la coagulación sanguínea y preserva la integridad del ADN en los leucocitos. Este agente quelante inactiva los iones de calcio necesarios para la cascada de coagulación, asegurando así que las muestras permanezcan estables y aptas para los procedimientos posteriores de extracción de ADN.

La extracción de ADN se realizó con el Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega, Cat. No. A1620), siguiendo las instrucciones del fabricante con ligeras modificaciones. Este método fue seleccionado por su eficiencia para aislar ADN genómico de alta pureza a partir de células nucleadas en sangre periférica, garantizando un rendimiento adecuado para ensayos de genotipificación y cuantificación telomérica.

Las modificaciones implementadas al protocolo original se centraron en ajustes menores en los volúmenes de pipeteo, tiempos de incubación en frío y manejo de la muestra, con el objetivo de optimizar la recuperación de ADN y minimizar la posible degradación durante el proceso.

Este kit utiliza un protocolo basado en soluciones para el aislamiento de ADN a partir de glóbulos blancos. Su metodología permite obtener ADN de alta pureza e integridad en un tiempo relativamente corto y con un procedimiento sencillo, adecuado para aplicaciones moleculares posteriores. La composición de reactivos utilizados se presenta en la anexo A1 para consulta complementaria.

6.5.1 Protocolo estandarizado para extracción de ADN

A cada muestra se le incorporaron 1200 μ L de Solución de Lisis Celular, y posteriormente fue invertida entre cinco y seis veces con el fin de asegurar una adecuada homogeneización. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante diez minutos, realizándose de dos a tres inversiones adicionales durante ese tiempo. Después de la incubación, las muestras fueron centrifugadas a 13,000 rpm durante un minuto a temperatura ambiente.

Tras este proceso, se eliminó cuidadosamente el sobrenadante, procurando mantener el pellet sumergido en un volumen residual de entre 10 y 20 μ L de la solución. A continuación, se repitieron los pasos anteriores desde el inicio, para reforzar la eficiencia del procedimiento.

Posteriormente, el contenido fue pipeteado de tres a cuatro veces y se sometió a una agitación vigorosa en vórtex, lo que permitió la resuspensión completa de los linfocitos, lograda tras aproximadamente 10 a 15 segundos. A la suspensión resultante se le añadieron 500 μ L de Solución de Lisis Nuclear, y se homogeneizó mediante cinco

aspiraciones y dispensaciones controladas con la pipeta. Esta mezcla fue incubada a 37°C durante diez minutos.

Una vez transcurrido este tiempo, las muestras fueron llevadas nuevamente a temperatura ambiente, momento en el cual se incorporaron 170 µL de Solución de precipitación de proteínas (*PPS*). Se realizó un vórtex vigoroso de 10 segundos y se mantuvieron las muestras en hielo durante quince minutos, con una breve agitación adicional al final del periodo.

La centrifugación subsiguiente se llevó a cabo a 13,000 rpm durante tres minutos. El sobrenadante se transfirió con cuidado a un nuevo tubo Eppendorf, se agitó brevemente por cinco segundos en el vórtex y se mantuvo nuevamente en hielo por otros quince minutos. Este procedimiento fue seguido por una segunda centrifugación bajo las mismas condiciones, y el sobrenadante resultante se transfirió a otro tubo que contenía 750 µL de isopropanol.

A partir de este punto, la mezcla fue invertida con suavidad hasta que se observaron hebras blancas, indicativas de la presencia de ADN. Se esperó un lapso de 8 minutos para permitir que el ADN precipitara completamente y se agruparan en hebras visibles, lo cual mejoró la eficiencia de la posterior centrifugación. Después de este tiempo, se realizó una nueva centrifugación a 13,000 rpm por dos minutos, tras la cual el sobrenadante fue cuidadosamente decantado, conservando únicamente el pellet.

A continuación, se agregaron 300 µL de etanol al 70% en el pellet, invirtiendo suavemente el tubo para permitir que el botón de ADN se despegara del fondo. Se repitió la centrifugación bajo las mismas condiciones y se eliminó el sobrenadante sin perder el botón de ADN. El tubo fue colocado en posición invertida sobre papel absorbente y se dejó secar durante toda la noche a temperatura ambiente.

Finalmente, al día siguiente de la extracción se añadieron 100 µL de *Solución de rehidratación de ADN* al tubo y se dejó reposar nuevamente a temperatura ambiente durante la noche. Posteriormente, se completó el proceso con una incubación de una hora a 65°C para asegurar la completa rehidratación del ADN.

6.5.2 Cuantificación de la calidad, integridad y pureza del ADN

Una vez hidratado completamente, el ADN fue evaluado para determinar su calidad, cantidad e integridad. La cuantificación se realizó mediante espectrofotometría UV-Visible en un NanoDrop (Thermo Scientific), seleccionando el modo de ácidos nucleicos y calibrando el equipo con 0.8 µL en el lector.

Las muestras que presentaron relaciones A260/230 dentro del rango óptimo (1.8-2.0) y A260/280 superiores a 2.0 fueron consideradas de alta pureza. Además, la integridad del ADN fue verificada mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.6%,

observando bandas sin señales de degradación. 30 ng/μL (volumen total de 50 μL). Tanto las alícuotas originales como las diluciones se almacenaron a -70°C y se descongelaron únicamente al momento de su uso en técnicas moleculares específicas, preservando su estabilidad e integridad.

6.6 Genotipificación del VNTR MNS16A en qPCR de punto final

Para la realización de la PCR se utilizó la enzima HotStarTaq® DNA Polymerase (N.º de lote 166030112, QIAGEN), seleccionada por sus propiedades que favorecieron una amplificación específica y confiable. Esta polimerasa, termoestable y modificada permanencia inactiva a temperatura ambiente, requiriendo un paso de activación inicial a altas temperaturas (mayores a 90 °C), lo cual evitó la actividad enzimática prematura. Esta característica es particularmente útil para prevenir la amplificación inespecífica y redujo la amplificación inespecífica, como la formación de dímeros de iniciadores, durante la preparación de la mezcla de reacción.

De acuerdo con Wang et al. (2006), los oligonucleótidos utilizados abarcaron la región correspondiente a las repeticiones en tándem, aplicándose el primer sentido (forward) 5'-AGGATTCTGATCTCTGAAGGGTG-3' y el primer antisentido (reverse) 5'-TCTGCCTGAGGAAGGACGTATG-3'.

Los oligonucleótidos fueron sintetizados por la empresa IDT (Integrated DNA Technologies) conforme a las secuencias publicadas en la literatura (Budak et al., 2019). Las características fisicoquímicas de estos oligonucleótidos se presentan en la Tabla 3.

El primer forward fue marcado con el fluorocromo 56-FAM (fluoresceína) en el extremo 5', con una absorbancia máxima de 495 nm y una emisión máxima de 520 nm, de adecuado para la detección mediante fluorescencia en un rango de pH 7.5–8.6.

ID	SECUENCIA	Pb	nmoles	Tm	MW
MNS16A_VNTR_F_FAM	5´-/56-FAM/ AGG ATT CTG ATC TCT GAA GGG TG -3´	23	103.5	55.9 °C	7,672.1
MNS16A_VNTR_R	5´-TCT GCC TGA GGA AGG ACG TAT -3´	25	24.5	58.4 °C	6,815.5

Tabla 3 Características fisicoquímicas de los oligos utilizados para la amplificación del VNTR MNS16A, incluyendo su secuencia, temperatura de fusión (Tm), longitud (pb), cantidad entregada (nmoles) y peso molecular (MW).

Se preparó una mezcla de reacción que incluye a Hot Start Taq MMx (Contenido: ADN polimerasa HotStatTaq, Tampón exclusivo de PCR y dNTPs) de **Qiagen**, es una mezcla que evitó un amplio número de pipeteos eliminando el riesgo de contaminación, aumentando su rendimiento y su reproducibilidad, MILIQ-H₂O y los primers previamente descritos.

Una vez realizada esta mezcla se colocaron 13 µL en tiras de tubos de PCR de **AXYGEN** y en cada tubo se agregaron 2 µL de la dilución de ADN 30 ng/uL que se requirió estudiar, esta preparación nos permitió la caracterización genotípica de *MNS16A*. En la A2 y A3 del anexo donde se describe y detalla la concentración y el volumen final de la mezcla de reacción, así como las condiciones en las cuales se realizó la amplificación de los fragmentos. La reacción se llevó a cabo utilizando un termociclador de la marca Applied Biosystems, modelo SimpliAmp, con número de serie 228002152.

Al finalizar la PCR, se tomaron 2 µL del producto amplificado y se diluyeron 1:100 en agua Mili-Q, con el fin de obtener una menor concentración adecuada para la separación por electroforesis capilar.

Para la electroforesis capilar se preparó una mezcla que contenía Formamida Hi-Di™ (Fisher Scientific, 2025) y el marcador de tamaño GS-LIZ-600 (Applied Biosystems®), se colocaron 14µL de dicha mezcla y 1 µL de la dilución obtenida de la muestra.

La Formamida Hi-Di™, se utilizó para suspender las muestras antes de la inyección electrocinética, mientras que el marcador GS-LIZ-600 permitió la cuantificación y determinación del tamaño de los fragmentos de ADN en el rango de 20 a 600 nucleótidos. Las concentraciones y volúmenes empleados se detallan en A4 del anexo.

La reacción se realizó en el equipo Applied Biosystems Sanger Sequencing 3500 Series Genetic Analyzers en conjunto con el software propio del equipo. Una vez finalizada la reacción se obtuvieron electroferogramas a partir de los cuales se realizó el análisis de las variantes de longitud de la región *MNS16A*.

6.7 Genotipificación de las variantes de *MTHFR* en PCR Tiempo Real

Las variantes del gen *MTHFR* con los polimorfismos de un solo nucleótido 677C>T (rs1801133) y 1298A>C (rs1801131) fueron identificadas mediante qPCR en tiempo real, una técnica de discriminación alélica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta metodología permitió amplificar y detectar de forma precisa los alelos específicos de dichas variantes genéticas a partir de ADN genómico.

Cada variante contó con su propia sonda TaqMan®, la cual fue diseñada con un fluoróforo (reporter) en el extremo 5' y un inhibidor de fluorescencia (quencher) en el

extremo 3'. Esta sonda permitió la discriminación alélica, ya que estaba marcada de manera diferencial para cada alelo, facilitando la detección específica durante la amplificación.

Dado que se analizaron dos variantes genéticas, se prepararon dos mezclas de reacción independientes, una para cada polimorfismo de interés. Cada mezcla incluyó el reactivo TaqMan® Genotyping Master Mix (Applied Biosystems®), el cual está específicamente optimizado para la genotipificación de SNPs mediante el uso de sondas TaqMan™. Esta mezcla estuvo compuesta de ADN polimerasa ultrapura AmpliTaq Gold™, dNTPs sin dUTP, referencia pasiva 1, y otros componentes optimizados para la amplificación específica (Thermo Fisher Scientific, 2025). Además, se incorporó el tinte ROX, que actuó como referencia pasiva para normalizar la señal de fluorescencia emitida durante la PCR (Thermo Fisher Scientific, 2025).

A cada mezcla se le añadió un reactivo comercial específico para la genotipificación de variantes genéticas humanas:

- rs1801133 TaqMan® Genotyping Assay Mix (20X)
- rs1801131 TaqMan® Genotyping Assay Mix (20X)

Cabe destacar que, aunque las mezclas de reacción utilizadas para la genotipificación de rs1801133 y rs1801131 son prácticamente idénticas en su composición —diferenciándose únicamente en el reactivo TaqMan® específicas para cada SNP—, las condiciones de amplificación no son iguales. Las reacciones se llevaron a cabo en un StepOnePlus™ Real-Time PCR System (Applied Biosystems, EE. UU.), utilizando 40 ciclos para el ensayo del polimorfismo 677C>T y 60 para el 1298A>C, según las especificaciones de cada protocolo.

En los anexos, se presentan las tablas A5 y A6, que describen los componentes y volúmenes empleados en cada mezcla de reacción, junto con los perfiles térmicos específicos aplicados en los diferentes protocolos de PCR (anexo A7 y A8).

El proceso incluyó tanto muestras biológicas como controles positivos y negativos, los cuales fueron fundamentales para validar la especificidad y confiabilidad de la amplificación, así como para facilitar la correcta interpretación de los resultados obtenidos en cada muestra.

Una vez concluida la amplificación, las muestras fueron clasificadas de acuerdo con las tres posibles variantes genotípicas: CC (homocigoto silvestre), CT (heterocigoto) y TT (homocigoto mutado). Los resultados de la PCR fueron posteriormente organizados y clasificados según su agrupación en un gráfico de discriminación alélica, el cual permitió diferenciar las variantes con base a los patrones de fluorescencia detectados.

Para la identificación de la variante A1298C del gen *MTHFR*, se realizó una PCR en tiempo real con discriminación alélica, siguiendo un protocolo similar al empleado para la variante C677T, con la diferencia de que las muestras se clasificaron como AA (homocigoto silvestre), AC (Heterocigoto) y CC (Homocigoto mutado).

6.8 Estimación de longitud telomérica

La longitud de telómeros en leucocitos (LTL) se evaluó mediante la técnica Monochrome Multiplex qPCR (MM-qPCR), basada en la amplificación simultánea de la secuencia telomérica (T) y de un gen de copia única de referencia (S, *gen HBB*) en el mismo pozo de reacción (Cawthon, 2009). La relación T/S se utilizó como medida relativa de la longitud telomérica, donde un valor T/S mayor a 1 indica telómeros más largos en comparación con la muestra de referencia (Figura 9).

$$\text{Relación } \frac{T}{S} = \frac{\text{cantidad de ADN telomérico (T)}}{\text{Cantidad de ADN de referencia (S)}}$$

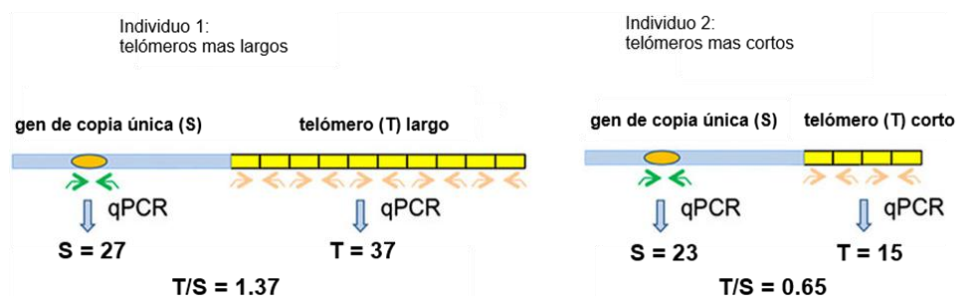


Figura 9 Representación gráfica del fundamento de la técnica de determinación de LTR mediante qPCR (Adaptada de Lapham, y col., 2015).

Los oligonucleótidos fueron diseñados para permitir la amplificación diferencial: El fragmento de referencia (S, *HBB*) se amplifica a una temperatura de 88°C, mientras que los fragmentos teloméricos (T) se desnaturalizan completamente. El fragmento telomérico se alinea a una temperatura de 62°C y se amplifica a 74°C, lo que garantiza la uniformidad en el tamaño de los productos amplificados mediante el diseño de primer antisentido específico.

Las reacciones se realizaron utilizando el Kit QuantiNova PCR (Qiagen), ajustando las condiciones de PCR conforme a las recomendaciones de Cawthon (2009). Cada reacción contenía 2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix, dNTPs, y los oligos correspondientes a los primers Forward y Reverse de telómeros y de *HBB*.

Los ensayos se llevaron a cabo en un disco de 100 pozos del equipo Rotor-Gene Q, ejecutando cada muestra por triplicado, resultando en un total de 99 muestras, mientras que el pozo restante se destinó a un control. Los primeros pozos del disco

incluyeron una curva estándar de cinco diluciones –utilizada para evaluar la eficiencia y linealidad de la reacción de amplificación–, junto con muestras de telómeros conocidos, una muestra de ADN genómico humano masculino (HMDNA) y una de la línea celular K562 (leucemia mieloide crónica), los pozos restantes (Aproximadamente 69) se destinaron a las muestras experimentales.

El A9 y el A10 colocadas en la sección de anexos, muestran las concentraciones de los reactivos utilizados por reacción y para el total de 100 pozos, además de las condiciones que fueron establecidas para la amplificación mediante PCR.

Tras la amplificación de las secuencias de telómeros y del gen de referencia HBB, se generó una curva de disociación (melting curve) mediante un incremento gradual de la temperatura, con el objetivo de evaluar la pureza y especificidad de los productos amplificados. En dicha curva, se representó la temperatura en eje X y la derivada de la fluorescencia en función de la temperatura ($-dF/dT$) en el eje Y, lo que dio lugar a la aparición de picos característicos en el gráfico.

Cada pico se interpretó como la temperatura de disociación (T_m) de los productos amplificados –punto en el que la doble hebra de ADN se desnaturaliza–, lo que reflejó la composición y longitud de los amplicones. Se identificaron dos picos bien definidos correspondientes a los telómeros ($T_m = 76^\circ\text{C}$) y al gen *HBB* ($T_m = 88^\circ\text{C}$), lo que confirmó la ausencia de amplificaciones inespecíficas y la no formación de dímeros de nucleótidos, garantizando la especificidad y reproductividad de la técnica.

7. RESULTADOS

7.1 Reclutamiento y distribución de la muestra

El presente proyecto inició el reclutamiento el día 9 de septiembre de 2024. Desde entonces, y hasta la fecha de corte del 22 de septiembre de 2025, logrando integrar un total de 115 individuos de los 120 contemplados. Esto representa un avance del 95.8% respecto a la muestra total esperada. Del total de participantes reclutados, 60 son mujeres y 55 son hombres. Todos los individuos han sido distribuidos en los tres grupos etarios, de acuerdo con su edad (Tabla 4).

Dichos grupos están definidos de la siguiente manera: 30-34 años; 60-64 años y 70-74 años.

A continuación, se presenta la distribución de los participantes en cada grupo etario. Como se puede observar, en los tres grupos de edad, los grupos femeninos ya se encuentran completos. Lo mismo ocurre con el grupo de hombres de 60–64 años. Por una parte, el grupo de hombres de 30-34 años faltó un participante para completar la muestra, y en el de 70-74 años aún faltan cinco. Debido al cierre del periodo de

recolección de muestras, ya no se incorporarán nuevos participantes, por lo que la distribución presentada corresponde al total final de la muestra analizada.

GRUPOS DE EDAD	MUJERES		HOMBRES		TOTAL	
	ESPERADO	AVANCE	ESPERADO	AVANCE	ESPERADO	AVANCE
	(n)	n (%)	(n)	n (%)	(n)	n (%)
30-34	20	20 (100.0)	20	19 (95.0)	40	39 (97.5)
60-64	20	20 (100.0)	20	20 (100.0)	40	40 (100.0)
70-74	20	20 (100.0)	20	16 (65.0)	40	36 (90.0)
TOTAL	60	60 (100.0)	60	55 (91.6)	120	115 (95.8)

Tabla 4 Se presenta la distribución final de los participantes reclutados, divididos por sexo y grupo etario. El porcentaje se calculó como $[n_{\text{reclutados}} \div n_{\text{esperados}}] \times 100$ $[n_{\text{reclutados}} \div n_{\text{esperados}}] \times 100$. El periodo de reclutamiento comprendido del 09/09/2024 - 22/09/2025

7.2 Aislamiento y preparación del material genético

De los 115 participantes incluidos en el estudio a todos se les ha realizado exitosamente la extracción de ADN, siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 7.6 de la metodología. Las muestras obtenidas han presentado un alto grado de pureza e integridad (Tabla 5), lo cual fue cuantificado y verificado con el fin de garantizar que se trabajara únicamente con material genético adecuado para los análisis moleculares posteriores.

Asimismo, se llevó a cabo la dilución de cada una de las extracciones, con el objetivo de preservar la integridad del ADN total extraído y asegurar su disponibilidad para futuras aplicaciones experimentales.

Participantes, n	115
Muestras de sangre periférica (EDTA 6 mL), n	115
Preservación de sangre periférica completa en alícuotas de 0.5 mL, n	460
Extracciones de ADN realizadas (2 mL de sangre periférica), n	460
Cantidad promedio de ADN por muestra $\pm$ DE, μ g	59.2 $\pm$ 25.3
Índice de pureza $A_{260/280}$ promedio $\pm$ DE	1.90 $\pm$ 0.027
Índice de pureza $A_{260/280} \geq 1.8$, %	100
Índice de pureza $A_{260/230}$ promedio $\pm$ DE	2.28 $\pm$ 0.079
Índice de pureza $A_{260/230} \geq 2.0$, %	100
Grado de integridad > 15 Kb, %	100

Tabla 5 Características del ADN extraído. La tabla muestra el índice de pureza del ADN (relaciones 260/280 y 260/230), el número de tubos de sangre preservados por participante (4 alícuotas), la cantidad total de ADN obtenida y la distribución de fragmentos superiores a 15 kpb

Una vez confirmada la pureza e integridad del ADN, las muestras fueron utilizadas para la genotipificación de las variantes de *hTERT* y *MTHFR*, así como para el análisis de longitud telomérica.

7.3 Estimación de longitud telomérica

7.3.1 Validación de la calidad de los resultados de MM-qPCR

Como se puede observar en la curva de disociación (*melting curve*) de la figura 10, se distinguieron dos picos bien definidos que corresponden a la amplificación de las secuencias de telómeros y del gen de referencia *HBB*. La presencia exclusiva de estos dos picos indicó la ausencia de amplificaciones inespecíficas y la no formación de dímeros de oligonucleótidos, confirmando la pureza y especificidad de la reacción.

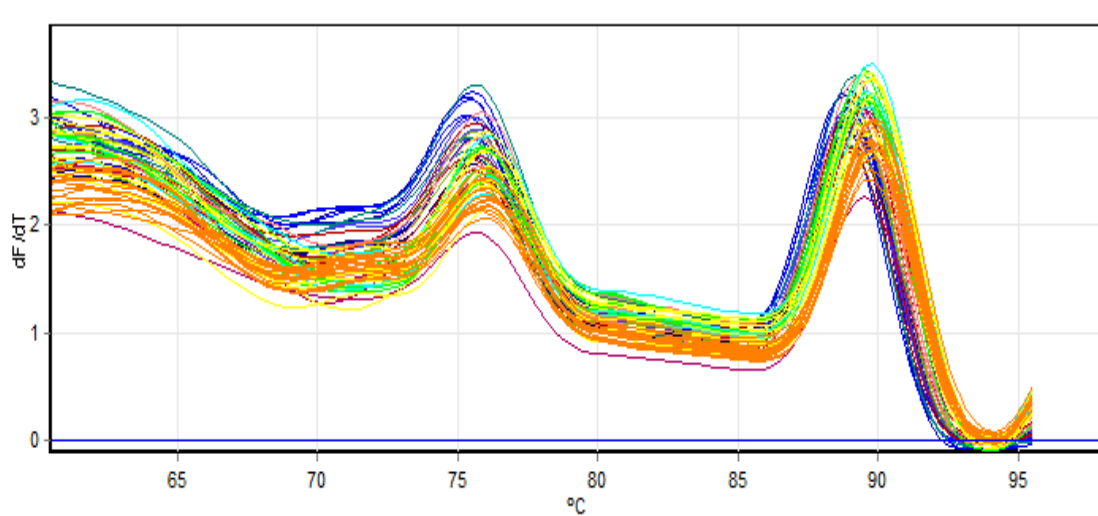


Figura 10 Curva de disociación (*melting curve*) obtenida mediante MM-qPCR, mostrando dos picos bien definidos correspondientes a las secuencias de telómeros (pico izquierdo) y al gen de referencia *HBB* (pico derecho). La presencia exclusiva de estos picos confirma.

Una vez verificada la especificidad de la amplificación, se analizaron los valores de ciclo umbral (C_q) que proporcionó el equipo tanto para telómeros como para *HBB*, gen de copia única empleado como control interno por su estabilidad y amplificación consistente entre las muestras. Este gen se utilizó con la finalidad de normalizar la cantidad de ADN genómico, ya que su expresión no varía entre individuos y permite corregir posibles diferencias en la concentración o pureza del ADN. Estos datos en crudo fueron exportados en formato .xlsx desde el software del Rotor-Gene, y posteriormente se realizó el cálculo de $\Delta C_q = C_q\text{Telómero} - C_q\text{HBB}$ para cada muestra, con el fin de normalizar las diferencias en la cantidad inicial de ADN genómico.

7.3.2 Obtención de la longitud telomérica relativa (T/S)

Con esos valores se obtuvo la longitud telomérica relativa (T/S) utilizando la ecuación $2^{-\Delta C_q}$. Los valores resultantes se agruparon de acuerdo con su grupo etario y fueron analizados estadísticamente (Tabla 6).

Para cada grupo se determinó el número de individuos (n), la media, la desviación estándar y la mediana. La normalidad de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro–Wilk (W), incorporando el valor de p correspondiente. Valores de p menores a 0.05 indicaron que los datos no seguían una distribución normal.

Grupo	n	Mediana	Q25	Q75	P value
Grupo 30	39	1.06	1.06	1.44	3.30e-04
Grupo 60	40	0.980	0.980	1.18	2.53e-08
Grupo 70	36	0.984	0.984	1.23	1.56e-09

Tabla 6 Resumen estadístico de la longitud telomérica relativa (T/S) por grupo etario

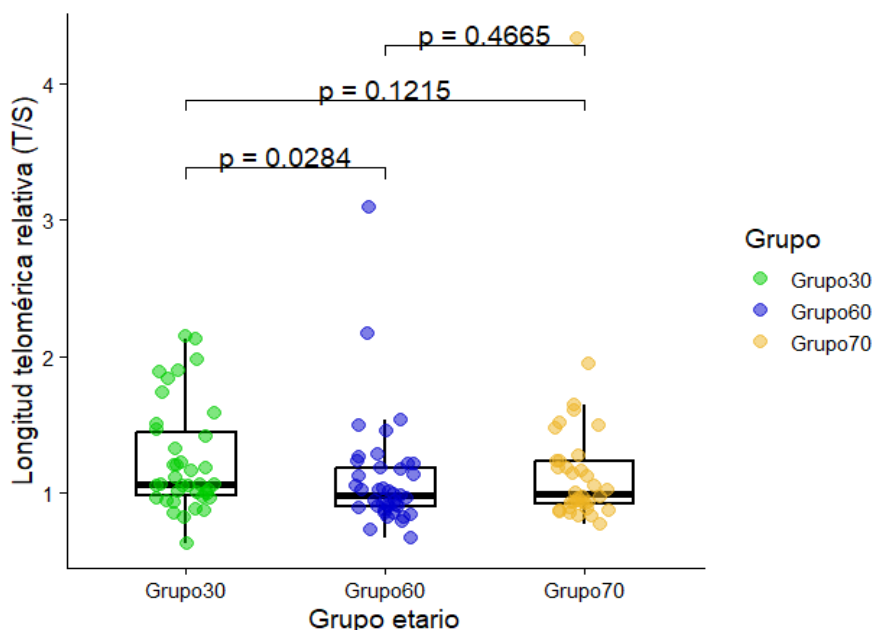
Al comprobar que los datos de longitud relativa de los telómeros no siguen una distribución normal en ninguno de los grupos de edad, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para evaluar diferencias entre los grupos. La prueba indicó que no existen diferencias significativas en la longitud de los telómeros entre los tres grupos de edad ($\chi^2 = 5.26$, $gl = 2$, $p = 0.072$). Estos resultados sugieren que, dentro de la muestra analizada, la longitud de los telómeros no varía de forma significativa con la edad.

No obstante, aunque la comparación global no fue significativa, se realizaron comparaciones por pares utilizando la prueba U de Mann–Whitney para explorar diferencias específicas entre grupos etarios (Tabla 7). En este análisis, únicamente la comparación entre los grupos de 30–34 años y 60–64 años mostró una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.0284$). En este caso, se observó una disminución de la mediana del cociente T/S de 1.057 a 0.975, lo cual sugiere que los adultos jóvenes presentan telómeros relativamente más largos que los adultos de mediana edad.

Comparación	W	p-value
Grupo 30 vs Grupo 60	1004	0.0284
Grupo 30 vs Grupo 70	848.5	0.1215
Grupo 60 vs Grupo 70	649.5	0.4667

Tabla 7 Resultados de la prueba U de Mann–Whitney para comparaciones por pares entre grupos etarios. Se considera un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$.

Por otro lado, no se identificaron diferencias significativas entre los grupos de 30–34 vs. 70–74 años ni entre 60–64 vs. 70–74 años ($p > 0.05$), indicando que estas comparaciones no muestran evidencia de cambios marcados en la longitud telomérica relativa.



Gráfica 1 Distribución de la longitud telomérica relativa (T/S) por grupo etario. Cada punto representa a un individuo y las cajas muestran la mediana y el rango intercuartílico. Aunque el análisis global mediante Kruskal–Wallis no fue significativo ($p = 0.072$), se realizaron comparaciones dirigidas entre pares de grupos con la prueba de Mann–Whitney. Se observó una diferencia significativa entre Grupo 30 y Grupo 60 ($p = 0.0284$), indicada con el asterisco.

Aunque la prueba de Kruskal-Wallis no mostró que hay diferencias significativas al considerar todos los grupos de edad, las comparaciones por pares permiten identificar diferencias localizadas. Este análisis aporta información más precisa sobre los grupos específicos que difieren en longitud telomérica, contribuyendo a una interpretación más precisa de los patrones de envejecimiento celular en la población analizada.

7.3.3 Comparación de la estimación de la longitud de los telómeros según el sexo y el grupo etario

Para evaluar las diferencias en la longitud telomérica entre los grupos etarios y entre sexo, primero se les aplicó la prueba de Shapiro-Wilk a la variable Telómeros, separando los datos por sexo y grupo etario (30–34, 60–64 y 70–74 años).

En el sexo femenino, los datos no siguieron una distribución normal ($p=0.0164$, $p=3.561e-05$ y $p=0.0105$). De la misma manera se realizó para el sexo masculino donde tampoco se mostró una distribución normal ($p=0.0018$, $p=0.0096$ y $p=2.273e-06$). Por esta razón, se utilizaron pruebas no paramétricas en los análisis comparativos posteriores.

Posteriormente, se observó si existía diferencias en la longitud telomérica entre los grupos etarios dentro de cada sexo, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis. Tanto en mujeres ($\chi^2 = 5.4727$, $gl = 2$, $p = 0.06481$) como en hombres ($\chi^2 = 0.80569$, $gl = 2$, $p = 0.6684$) no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los resultados descriptivos (mediana y rango intercuartílico) se muestran en la Tabla 8.

Grupo	Sexo	Mediana	P25	P75
30–34	F	1.200	1.040	1.620
30–34	M	1.010	0.910	1.180
60–64	F	1.080	0.874	1.240
60–64	M	0.964	0.898	1.020
70–74	F	1.010	0.927	1.190
70–74	M	0.948	0.881	1.240

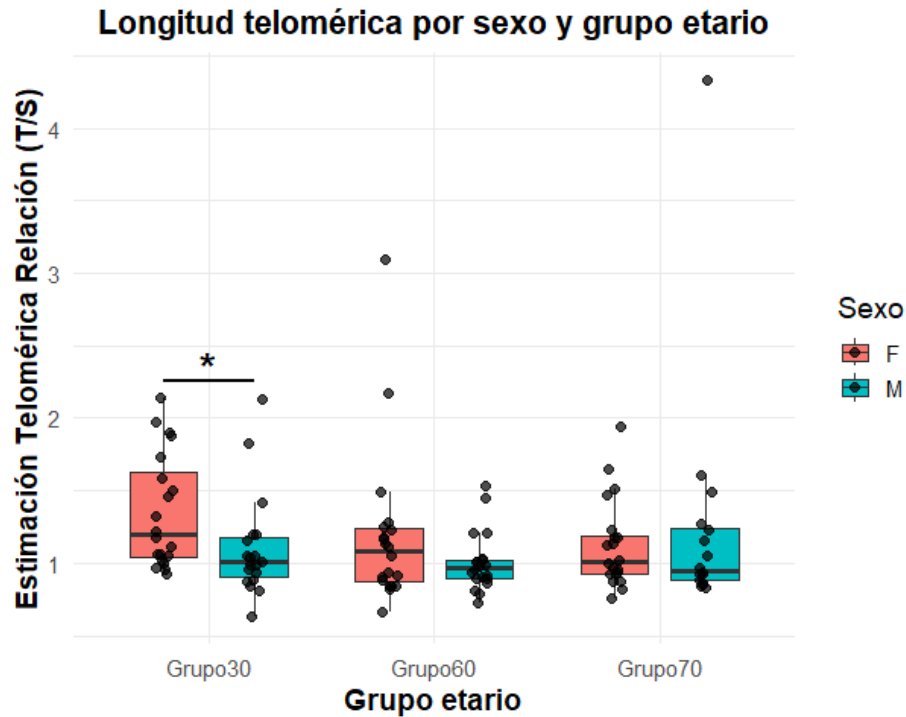
Tabla 8 Resumen estadístico de la longitud telomérica relativa (T/S) por sexo y grupo etario.

Finalmente, se comparó la longitud telomérica entre sexos mediante la prueba de U Mann–Whitney (Wilcoxon rank-sum), tanto para el total de la muestra como por grupo etario.

El análisis general mostró diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres ($W = 2030.5$, $p = 0.033$), con mayor longitud telomérica en mujeres.

Al analizar por grupo etario, la diferencia se mantuvo significativa únicamente en el grupo de 30–34 años ($W = 274.5$, $p = 0.018$), mientras que en los grupos de 60–64 y 70–74 años no se observaron diferencias significativas ($p = 0.414$ y $p = 0.714$, respectivamente).

Estos resultados sugieren que, aunque las mujeres presentan telómeros más largos que los hombres, esta diferencia se atenúa con el envejecimiento. La gráfica 2 muestra la distribución de la longitud telomérica por grupo etario y sexo, evidenciando la tendencia descrita.



Gráfica 2 Estimación de la longitud telomérica relativa (Relación T/S) por sexo F(femenino) y M (masculino) y grupo etario.

7.4 Genotipificación de *hTERT*

7.4.1 Resultado del análisis de fragmentos de VNTR MNS16A

La genotipificación de la variante VNTR *MNS16A* del gen *hTERT* se llevó a cabo mediante PCR y posterior análisis en el sistema de fragmentos. En el electroferograma se observaron picos bien definidos que corresponden a fragmentos de diferentes longitudes, representativos de los distintos alelos presentes en esta región polimórfica. Cada pico fue identificado de acuerdo con su tamaño en pares de bases (pb), lo que permitió distinguir las variantes clasificadas como cortas (S) y largas (L).

Con el fin de obtener una representación visual integral de los fragmentos detectados en la población mexicana, se realizó una mezcla de los productos de PCR que incluía las diferentes variantes alélicas identificadas. Esta estrategia permitió generar una sola imagen representativa del conjunto de fragmentos que conforman la variabilidad del VNTR. En el electroferograma obtenido a partir de esta mezcla se observaron los cuatro fragmentos principales que se han reportado en diversas poblaciones: los alelos 243 pb, 272 pb, considerados como las variantes cortas (S), y los alelos 302 pb y 333 pb, que corresponden a las variantes largas (L).

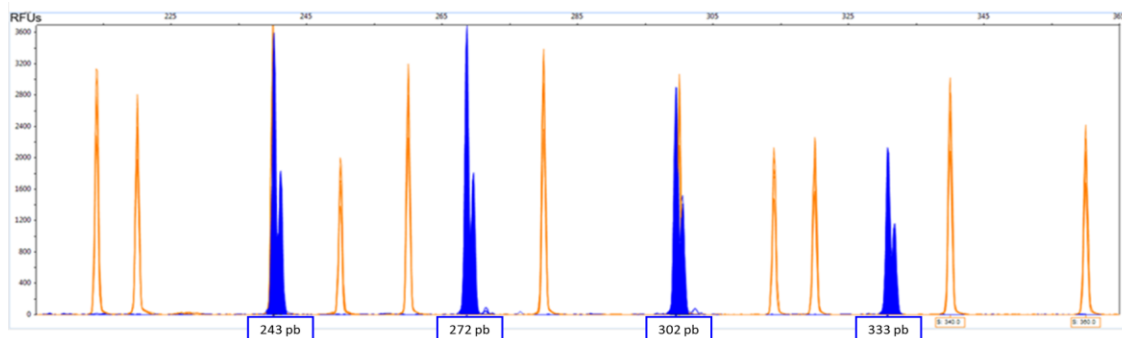


Figura 11 Electroferograma compuesto de diferentes muestras que ejemplifican las variantes detectadas en la región VNTR MNS16A. Línea azul: fragmentos amplificados; línea naranja: marcador de peso molecular GS-600.

7.4.2 Confirmación y validación de fragmentos VNTR MNS16A

En la muestra estudiada, se identificaron cuatro variantes diferentes, correspondientes a fragmentos de 243, 272, 302 y 333 pb con el objetivo de confirmar la secuencia específica de los fragmentos identificados, se determinó la secuencia de cada uno mediante el método de Sanger acoplado a electroforesis capilar. Se seleccionaron fragmentos representativos para cada alelo, los amplificados se corrieron en gel de agarosa al 3%, se recortaron y se purificaron previo a reacción de secuencia. Las reacciones de secuencia purificadas se desnaturalizaron con formamida y se analizaron en el equipo de secuenciación automatizada basada en separación de fragmentos por electroforesis capilar y detección de fluorescencia. Esto permitió confirmar la identidad de cada alelo y la presencia de las repeticiones en tándem que caracterizan al VNTR MNS16A (Figura 12)

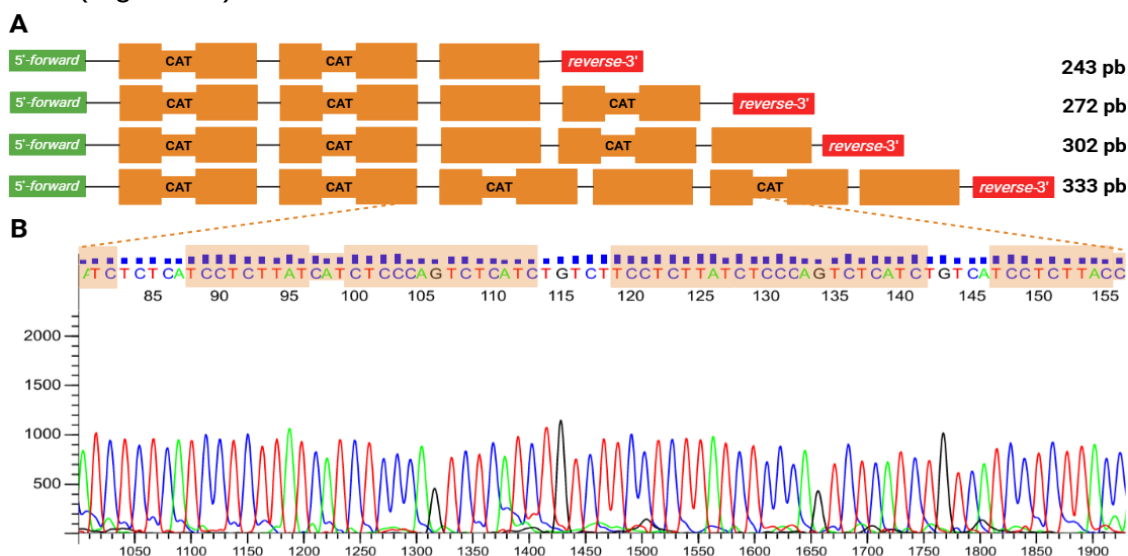
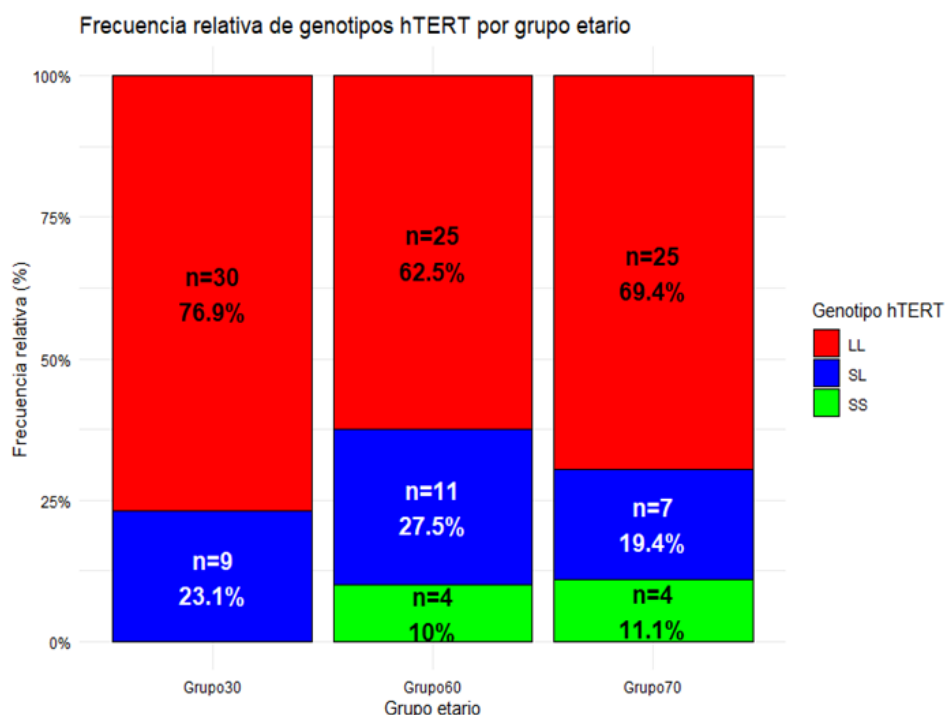


Figura 12 Región MNS16A-VNTR del gen hTERT. A. Representación esquemática de los cuatro alelos más frecuentemente detectados en este estudio. B. Fragmento del electroferograma correspondiente a secuenciación del amplificado de 333 pb de MNS16A-VNTR, variante que contiene seis repetidos de 23 pb.

7.4.3 Perfil genotípico de la población estudiada

La muestra total analizada fue de 115 individuos, se identificaron los 3 genotipos correspondientes a la variante de VNTR MNS16A. De estos el genotipo LL fue el más frecuente en la población total y predominó en todos los grupos etarios evaluados. La distribución de genotipos por grupo de edad se representa en la Figura 10.

En conjunto, los tres grupos etarios muestran una tendencia clara hacia una mayor proporción de individuos con el genotipo LL, seguida del genotipo SL, mientras que el genotipo SS se observó únicamente en los grupos de 60-64 y 70-74 años, sin registrarse en el grupo control 30-34 años.



Gráfica 3 Distribución de los genotipos del VNTR MNS16A por grupo de edad (30–34, 60–64 y 70–74 años). La gráfica muestra de forma comparativa la frecuencia relativa de los genotipos SS, SL y LL, lo que permite visualizar las diferencias en su representación entre los grupos etarios analizados.

Debido a que en el grupo de 30-34 años no se observaron individuos con el genotipo SS y los otros grupos cuentan con una frecuencia menor a 5, se utilizó la prueba exacta de Fisher para evaluar las diferencias en la distribución genotípica entre grupos etarios. Los resultados no mostraron diferencias significativas entre los grupos ($p=0.2057$), lo que indica que la composición genotípica fue similar entre las 3 categorías de edad analizadas. Lo que indica que la frecuencia de los genotipos LL, LS, SS parece mantenerse constante entre los grupos de edad de esta población estudiada independientemente de la edad cronológica.

7.4.4 Distribución de las frecuencias alélicas de la población estudiada

En el análisis de frecuencia alélicas del VNTR MNS16A, los alelos identificados se agruparon de acuerdo con sus tamaño en dos categorías: Cortos (S), que incluyen los fragmentos de 243 pb y 272 pb, y Largos (L), que comprende los fragmentos de 302 pb y 333 pb.

En la muestra total analizada (n=115), el alelo L fue el más frecuente en todos los grupos etarios, seguidos por el alelo S, cuya representación fue considerablemente menor.

La tabla 9 representa la distribución alélica por grupo de edad, mostrando que en los tres grupos se mantienen en una tendencia similar, con un predominio del alelo L en la mayoría de los individuos.

Grupo	Individuos (n)	Alelos S	Alelos L	Frecuencia del alelo S (%)	Frecuencia del alelo L (%)
30-34 años	39	9	69	11.5	88.5
60-64 años	40	19	61	23.8	76.2
70-74 años	36	15	57	20.8	79.2
Total	115	43	187	18.7	81.3

Tabla 9 Frecuencia alélica del VNTR MNS16A en los diferentes grupos etarios. Los alelos fueron clasificados como Cortos (S: 243 y 272 pb) y Largos (L: 302 y 333 pb) de acuerdo con el tamaño de los fragmentos obtenidos por electroforesis capilar. Se muestra el número total de alelos y su frecuencia relativa (%) por grupo de edad.

Para evaluar las diferencias en la frecuencia de los alelos cortos (S) y largos (L) de la variante VNTR MNS16A del gen hTERT, se realizó una prueba de Chi-cuadrado. Los resultados mostraron que la distribución de alelos S y L fue similar entre los grupos etarios, sin diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 4.1896$, $p = 0.1231$). Esto sugiere que la composición alélica no varía de manera significativa con la edad.

Dentro de las muestras analizadas, se han identificado seis variantes alélicas. Estas variantes son claramente visibles en los electroferogramas generados, cada una con un patrón característico en función del tamaño del fragmento. De las variantes identificadas, se encontraron dos homocigotas (243 pb y 302 pb) y cuatro heterocigotas (243 pb - 302 pb, 243-333 pb, 272 pb - 302 pb, 302 pb - 333 pb) (Tabla 10).

Combinación hTERT	Grupo 30-34	Grupo 60-64	Grupo 70-74
243-243	0	4	4
243-302	8	9	5
243-333	0	1	0
272-302	1	1	2
302-302	27	20	24
302-333	3	5	1
Total	39	40	36

Tabla 10 Combinaciones de fragmentos del VNTR MNS16A por grupo de edad, mostrando la frecuencia de cada combinación observada en la población analizada.

Si observamos las variantes alélicas y el cómo se distribuyen entre los 3 grupos etarios encontramos la siguiente distribución:

Grupos	Grupo 30-34	Grupo 60-64	Grupo 70-74
	(n, %)	(n, %)	(n, %)
243	8 (10.25)	18 (22.50)	13 (18.08)
272	1 (1.29)	1 (1.25)	2 (2.77)
302	66 (84.61)	55 (68.75)	56 (77.77)
333	3 (3.85)	6 (7.50)	1 (1.38)
Total	78 (100)	80 (100)	72 (100)

Tabla 11 Distribución de las variantes alélicas del polimorfismo VNTR MNS16A del gen hTERT entre los diferentes grupos.

Para comparar la distribución de los alelos de la variante VNTR MNS16A del gen hTERT entre los grupos etarios, se aplicó la prueba exacta de Fisher debido a la presencia de frecuencias bajas en algunas categorías.

Los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia alélica entre los grupos ($p = 0.146$), lo que indica que la composición de los alelos 243, 272, 302 y 333 fue similar en todas las edades evaluadas.

7.4.5 Asociación entre los genotipos de hTERT y la longitud telomérica

Se evaluó la relación entre los genotipos de la variante VNTR hTERT LL, LS y SS contra la longitud telomérica de todos los participantes, para ellos se les aplicó Shapiro-Wilk los cuales demostraron que no seguían con una distribución normal ($p=1.335e-12$, $p=0.0001$, $p= 0.0002$ respectivamente), por ello se procedió con la aplicación de pruebas no paramétricas.

hTERT	n	Mediana	P25	P75
SS	8	0.914	0.879	1.030
LS	27	1.110	0.900	1.210
LL	80	1.020	0.929	1.240

Tabla 12 Relación entre los genotipos del VNTR MN16A del gen hTERT (clasificados por combinación LL, LS y SS) y la longitud telomérica relativa (Relación T/S).

Se realizó la prueba de Kruskal-Wallis la cual no mostró diferencias significativas en la longitud telomérica entre los tres grupos de edad ($\chi^2 = 1.479$, $gl = 2$, $p = 0.477$), indicando que para estos datos no existe evidencia de que la variante de hTERT influya sobre la longitud telomérica.

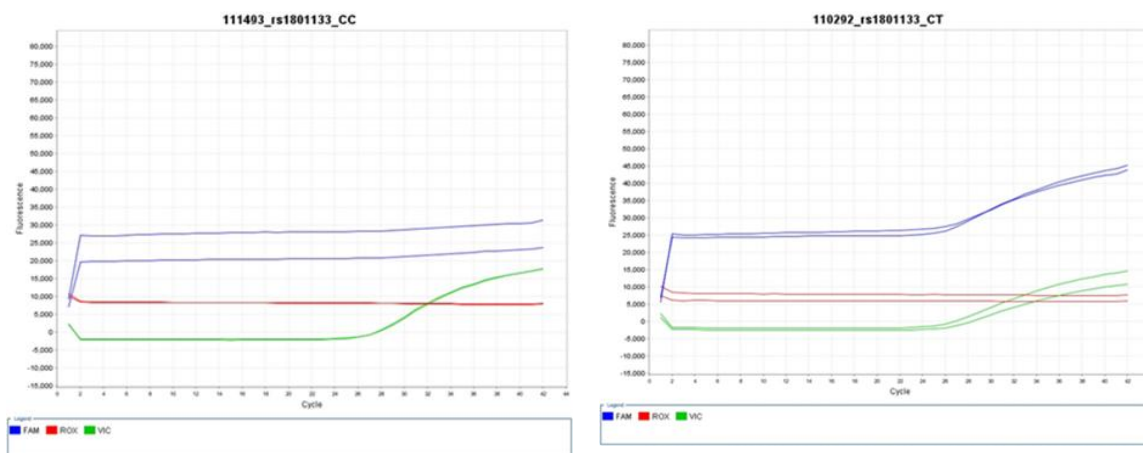
7.5 Genotipificación de *MTHFR* de la variante 677C>T

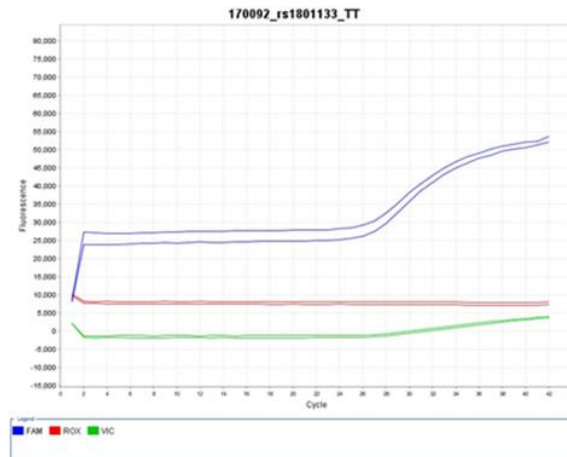
7.5.1 Validación de ensayos mediante controles positivos

Al finalizar la PCR en tiempo real para la variante C677T, se obtuvieron curvas de amplificación, donde el eje X representa el número de ciclos y el eje Y la fluorescencia (ΔRn), indicador del aumento real de la señal asociada a la amplificación del ADN.

La discriminación alélica se logró mediante sondas específicas: FAM (azul) para el alelo C, VIC (verde) para el alelo T, mientras que ROX (rojo) funciona como control pasivo de referencia.

En la curva de los controles positivos, la muestra CC mostró amplificación exclusiva del alelo C (FAM), la CT de ambos alelos (FAM y VIC) y la TT únicamente del alelo T (VIC) (Gráfico 4).

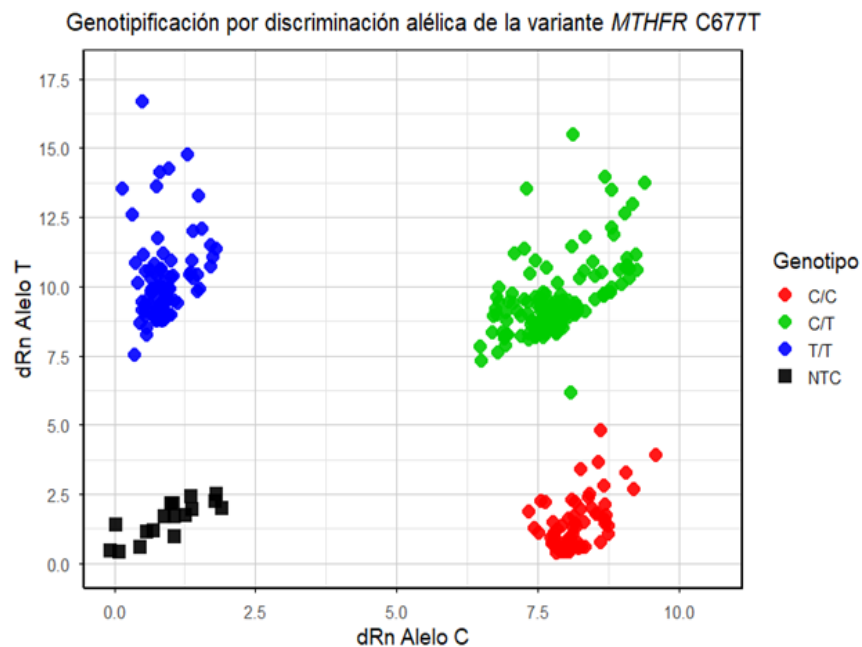




Gráfica 4 Curvas de amplificación representativas de los controles positivos para la variante C677T del gen *MTHFR*.

7.5.2 Perfil alélico: gráfico de distribución

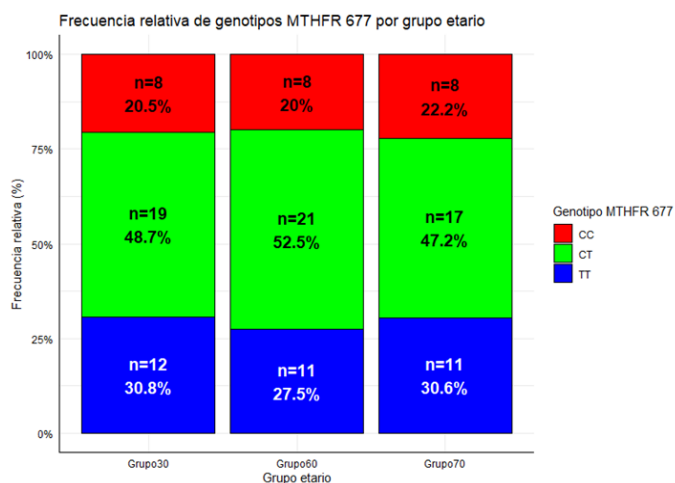
El equipo proporcionó los valores de CT utilizados para generar los gráficos de discriminación alélica, donde el eje X corresponde al alelo C (ΔR_n) y el eje Y al alelo T (ΔR_n). A partir de estos valores se integraron los resultados de varias corridas de PCR para representar todos los genotipos. En la Gráfico X se muestran los datos distribuidos por color: negro (Controles negativos), azul (Genotipo TT), verde (Genotipo CT) y rojo (Genotipo CC)



Gráfica 5 Gráfico de discriminación alélica para la variante C677T del gen *MTHFR*. NTC (No template control)

7.5.3 Distribución de genotipos por grupo etario

A partir de los datos obtenidos en los gráficos de discriminación alélica, se realizó la separación de las variantes genotípicas (CC, CT y TT) por grupo etario. Con esta información se calculó la frecuencia relativa de cada genotipo en los distintos grupos de edad. La distribución de los genotipos fue similar entre los grupos, observándose una mayor proporción del genotipo CT, seguido del TT y en menor frecuencia el CC.



Gráfica 6 Frecuencia relativa de los genotipos CC, CT y TT de la variante C677T en los diferentes grupos de edad.

Para evaluar si la distribución de la variante 677 difería entre los grupos etarios, se aplicó la prueba de Chi-cuadrada de Pearson, la cual permite comparar la frecuencia de categorías entre grupos. Los resultados mostraron que no existen diferencias significativas en la frecuencia de los genotipos entre los grupos ($\chi^2 = 0.25$, $gl = 4$, $p = 0.993$), indicando que la proporción de cada genotipo se mantiene relativamente constante en las distintas edades analizadas.

Posteriormente se determinaron las frecuencias alélicas de la variante MTHFR 677C>T en los grupos etarios.

Grupo	n	Alelo C (n , %)	Alelo T (n , %)
Grupo 30-34	78	(43, 55.1)	(35, 44.9)
Grupo 60-64	80	(43, 53.8)	(37, 46.2)
Grupo 70-74	72	(39, 54.2)	(33, 45.8)

Tabla 13 Distribución de las frecuencias alélicas (Alelo C y Alelo T) del polimorfismo MTHFR 677 entre los grupos etarios.

Asimismo, se realizó la evaluación del equilibrio de Hardy-Weinberg para la variante MTHFR 677C>T en los tres grupos etarios analizados. Los resultados mostraron que la distribución fenotípica de esta variante se encontró en equilibrio en los 3 grupos etarios evaluados con $p > 0.05$ en todos los casos. Esto indica que las frecuencias observadas en los genotipos CC, CT y TT no difirieron significativamente de las esperadas bajo equilibrio.

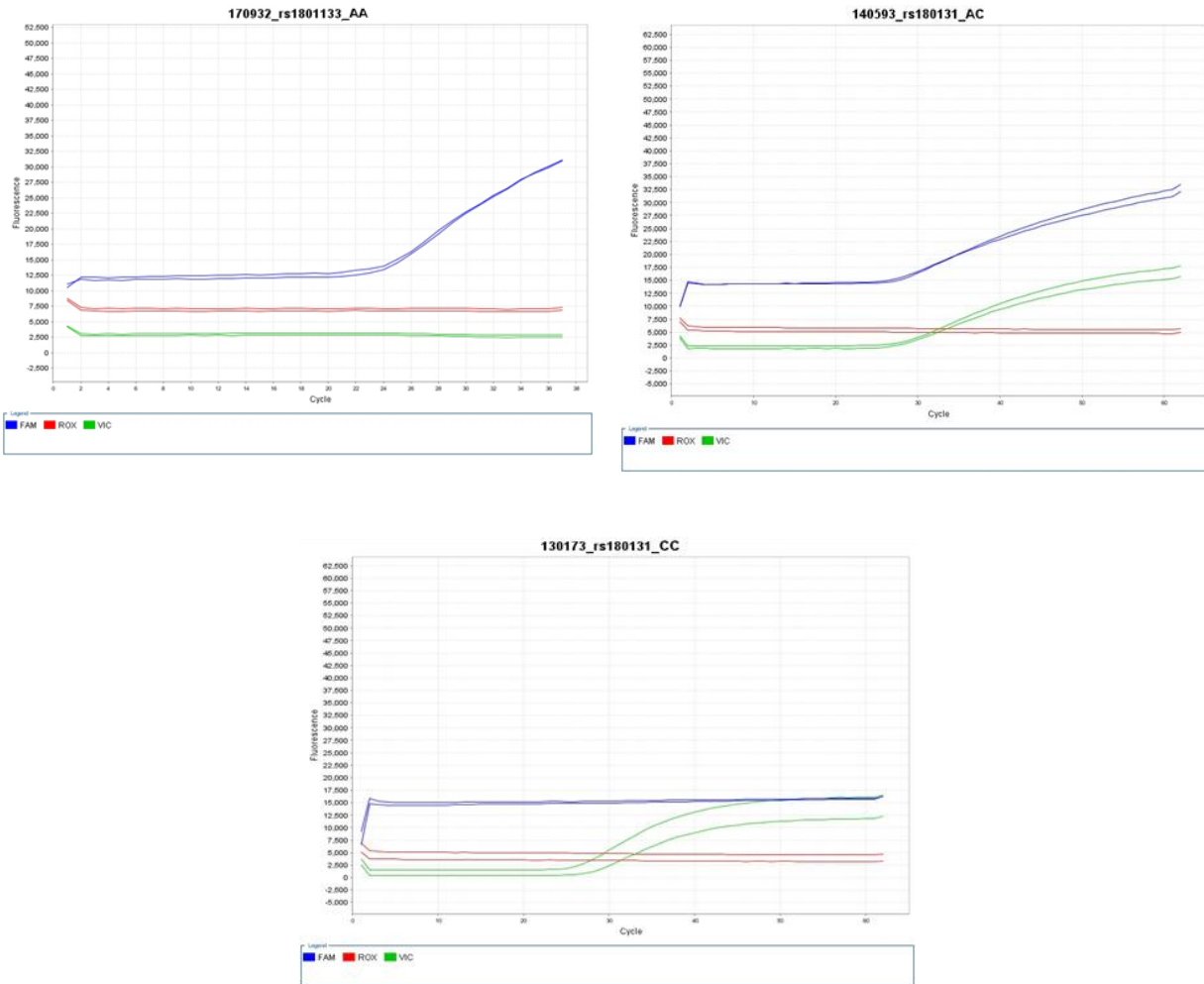
Grupo	Genotipos	χ^2	gl	p-value	Interpretación
(CC, CT, TT)					
Grupo 30	8, 19, 12	0.028	1	0.8659	En equilibrio
Grupo 60	8, 21, 11	0.0195	1	0.8889	En equilibrio
Grupo 70	8, 17, 11	0.0088	1	0.9255	En equilibrio

Tabla 14 Resultados de la prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg para la variante MTHFR C677T por grupo etario.

7.6 Genotipificación de MTHFR de la variante 1298A>C

7.6.1 Validación de ensayos mediante controles positivos

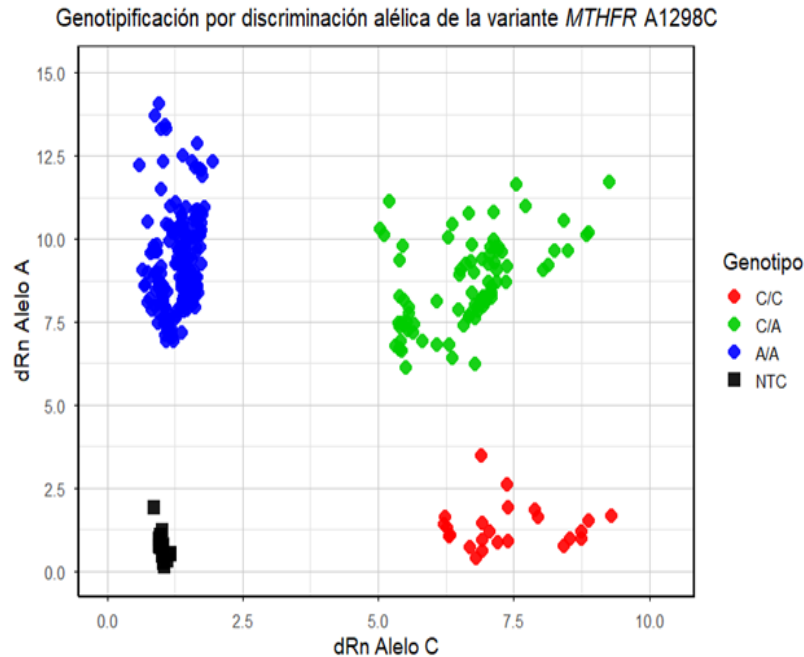
Al igual que se realizó para la variante MTHFR 677, se presentan las curvas de amplificación obtenida para la variante MTHFR 1298, donde se pudo observar la progresión de la fluorescencia a lo largo de los ciclos de PCR para cada genotipo. Las corridas incluyeron controles positivos (Gráfico 7) y negativos, asegurando la especificidad y confiabilidad de la amplificación. Los canales de fluorescencia FAM y VIC permitieron detectar específicamente los alelos A y C, respectivamente, mientras que ROX se utilizó como control de referencia para normalizar la señal.



Gráfica 7 Curvas de amplificación representativas de los controles positivos para la variante A1298C del gen MTHFR.

7.6.2 Perfil alélico: gráfico de distribución

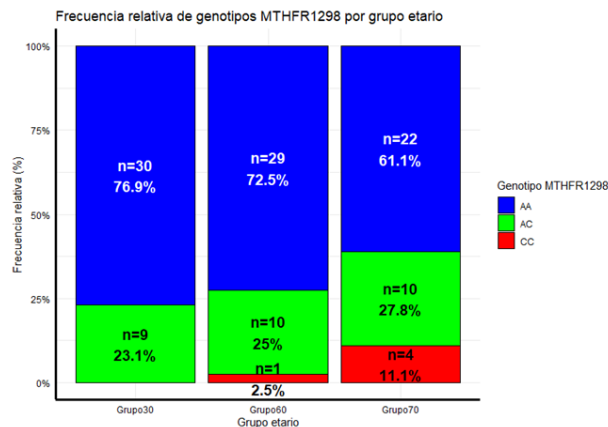
Utilizando las curvas de amplificación obtenidas de la variantes MTHFR 1298, se construyó un mapa de discriminación alélica, lo que permitió la visualización de manera clara de los distintos genotipos AA, AC y CC. La formación de agrupamientos definidos en los gráficos facilitó la asignación precisa de cada muestra en su combinación de alelos correspondientes (Gráfica 8).



Gráfica 8 Gráfico de discriminación alélica para la variante A1298C del gen *MTHFR*.

7.6.3 Distribución de genotipos por grupo etario

A partir de este gráfico de discriminación alélica se realizó un gráfico en el cual se colocaron y se calcularon las frecuencias relativas de cada genotipo en cada grupo etario, expresando la proporción de individuos portadores de cada genotipo respecto al total de muestras. La Gráfica 9 permitió visualizar de manera clara la distribución de los genotipos entre los grupos.



Gráfica 9 Frecuencia relativa de los genotipos AA, AC y CC de la variante A1298C en los diferentes grupos de edad.

Por último, para poder evaluar si la distribución del genotipo de la variante *MTHFR* 1298 difería entre los grupos etario se aplicó la prueba de Chi-cuadrada de Pearson, que

permite comparar la frecuencia de categorías entre los grupos independientes. Los resultados mostraron que no existieron diferencias significativas en la distribución de genotipos entre los tres grupos analizados ($\chi^2 = 6.66$, $gl = 4$, $p = 0.155$), lo que indica que la proporción de cada genotipo se mantiene relativamente constante en los distintos rangos de edad estudiados.

Posteriormente se determinaron las frecuencias alélicas de la variante *MTHFR* 1298A>C en los grupos etarios.

Grupo	n	Alelo A (n , %)	Alelo C (n , %)
Grupo 30-34	78	(69, 88.5)	(9, 11.5)
Grupo 60-64	80	(68, 85)	(12, 15)
Grupo 70-74	72	(54, 75)	(18, 25)

Tabla 15 Distribución de las frecuencias alélicas (Alelo A y Alelo C) del polimorfismo *MTHFR* A1298C en los grupos etarios.

Se evaluó el equilibrio de Hardy–Weinberg para la variante *MTHFR* 1298A>C en los grupos etarios analizados. En todos los grupos, incluyendo aquellos con genotipos poco frecuentes (CC = 0 o 1), los resultados de la prueba exacta indicaron que no hubo desviación significativa del equilibrio ($p = 1$ para los grupos con CC = 0 y 1; $p = 0.23$ para CC = 4). Estos resultados sugieren que las frecuencias genotípicas observadas se encuentran en equilibrio en todos los grupos evaluados.

Grupo	Genotipos (AA, AC, CC)	χ^2	gl	p-value	Interpretación
Grupo 30	30, 9, 0	0.0371	1	0.8472	En equilibrio
Grupo 60	29, 10, 1	0.0196	1	0.6611	En equilibrio
Grupo 70	22, 10, 4	1.4383	1	0.2304	En equilibrio

Tabla 16 Resultados de la prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg para la variante *MTHFR* A1298C por grupo etario.

7.7 Análisis de la longitud telomérica y las combinaciones genotípicas de MTHFR 677C>T y MTHFR 1298A>C

Con el fin de evaluar cuál es el efecto conjunto de las variantes 677C>T (rs1801133) y 1298A>C (rs1801131) del gen *MTHFR* sobre la longitud telomérica. Esta estrategia permitió analizar la posible interacción entre ambas variantes y su relación con la longitud telomérica (T/S ratio).

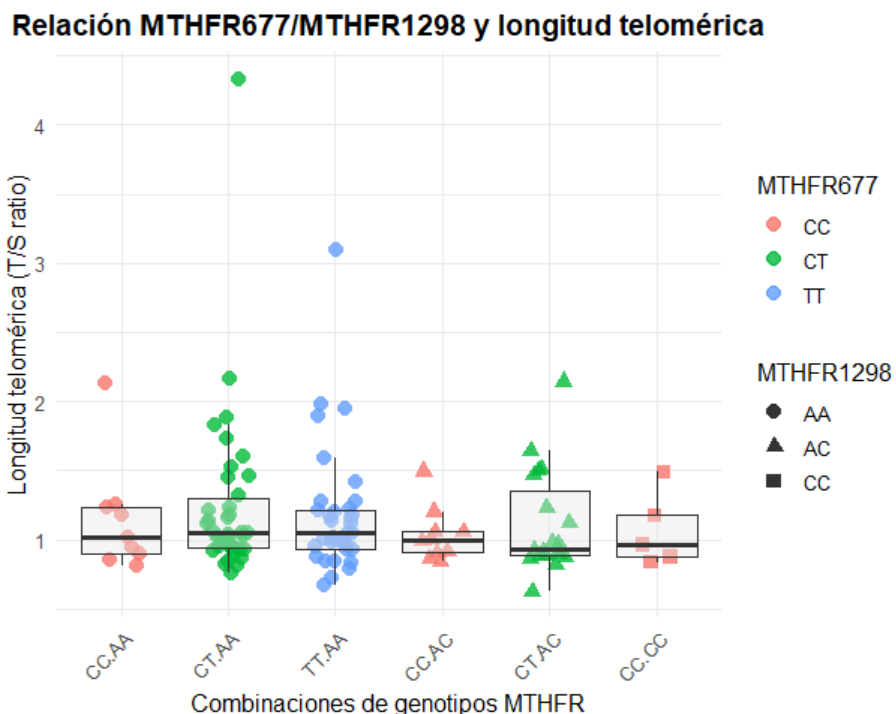
Previo al análisis comparativo, se evaluó la distribución de los datos por medio de Shapiro-Wilk, esta prueba nos permitió observar que la mayoría de las combinaciones genotípicas presentaron valores de $p < 0.05$, demostrando que nuestros datos no tienen una distribución normal. Por ello se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis.

Los resultados mostraron que no se presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la longitud telomérica entre las distintas combinaciones genotípicas ($\chi^2 = 2.2387$, $gl = 5$, $p = 0.8152$).

Genotipo	n	Mediana	P25	P75	p value
combinado					
CC-AA	9	1.010	0.900	1.230	0.006
CT-AA	38	1.050	0.940	1.300	5.31x10-8
TT-AA	34	1.050	0.936	1.220	3.08x10-8
CC-AC	10	0.999	0.910	1.060	0.0459
CT-AC	19	0.931	0.886	1.350	0.0045
CC-CC	5	0.965	0.877	1.180	0.322

Tabla 17 Medidas de tendencia central de la longitud telomérica relativa de los participantes según las combinaciones de genotipos de los polimorfismos C677T/A1298C.

Como se pudo observar las medianas fueron similares entre las combinaciones genotípicas sin una tendencia clara de asociación, por lo que los resultados sugieren que las variables en conjunto no muestran una influencia directa sobre la longitud telomérica.



Gráfica 10 Relación entre las combinaciones de genotipos de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C y la longitud telomérica relativa.

7.8 Comparación de niveles de homocisteína entre grupos de edad

Para poder realizar la evaluación de los niveles de homocisteína en los participantes de los grupos 3 grupos etarios, se realizó un análisis de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Los resultados indicaron que únicamente el grupo de 30-34 años presentó una distribución normal ($W = 0.967$, $p\text{-value} = 0.304$), mientras que los grupos de 60-64 años ($W = 0.81498$, $p = 1.412e-05$) y 70-74 años ($W = 0.83484$, $p = 8.685e-05$) no mostraron normalidad.

Grupo	Mediana	P25	P75
Grupo 30-34	8.37	6.92	9.52
Grupo 60-64	8.40	7.22	10.4
Grupo 70-74	10.30	7.66	12.2

Tabla 18 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) por grupo etario.

Debido a la falta de normalidad en los grupos, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los niveles de homocisteína entre los tres grupos. Esta prueba reveló diferencias significativas entre los grupos ($\chi^2 = 8.959$, $gl = 2$, $p = 0.011$), indicando

que al menos un grupo presenta niveles de homocisteína distintos respecto a los demás. Para evaluar si existían diferencias en los niveles de homocisteína entre los grupos de edad, se aplicó la prueba de U de Mann Whitney para comparaciones por pares como se muestra en la Tabla 19.

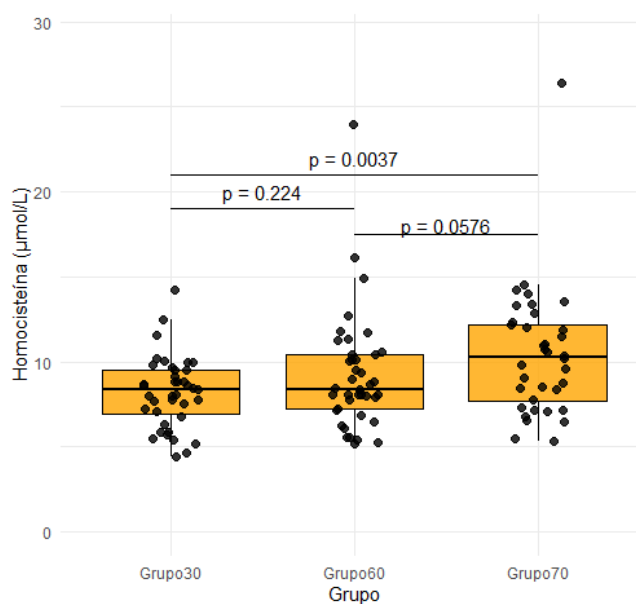
Comparación	W	p-value
Grupo 30 vs Grupo 60	655.5	0.224
Grupo 30 vs Grupo 70	428.0	0.0037
Grupo 60 vs Grupo 70	537.0	0.058

Tabla 19 Comparación por pares de los niveles de homocisteína entre los grupos etarios mediante la prueba U de Mann-Whitney.

Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas entre los grupos de 30–34 y 60–64 años ($W = 655.5$, $p = 0.224$), ni entre los grupos de 60–64 y 70–74 años ($W = 537$, $p = 0.058$).

Sin embargo, sí se observaron diferencias significativas entre los grupos de 30–34 y 70–74 años ($W = 428$, $p = 0.0037$), indicando que los individuos del grupo de 70–74 años presentaron concentraciones más elevadas de homocisteína en comparación con los adultos jóvenes.

Las medianas de homocisteína fueron $8.37 \mu\text{mol/L}$ para el Grupo 30-34 años, $8.39 \mu\text{mol/L}$ para el Grupo 60-64 años y $10.27 \mu\text{mol/L}$ para el Grupo 70-74 años (Gráfica 11).



Gráfica 11 Distribución de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) entre los grupos etarios

Dado que los niveles de homocisteína pueden variar significativamente entre hombres y mujeres, se decidió realizar los análisis estadísticos por separado para cada sexo, esto permitió evaluar las diferencias intergrupales sin que las variaciones propias del sexo confundan los resultados, asegurando una interpretación más precisa de los niveles de homocisteína en función a la edad.

7.8.1 Niveles de homocisteína en hombres por grupo etario

Ya que por medio de la prueba de Shapiro-Wilk las $p < 0.05$ para los tres grupos, se procedió a realizar el análisis de los niveles de homocisteína en hombres de los diferentes grupos etarios con la prueba de Kruskal-Wallis la cual indicó diferencia entre los grupos ($\chi^2 = 9.27$, $gl = 2$, $p = 0.0097$).

Grupo	Mediana	P25	P75	p value
Grupo 30-34	8.67	8.02	9.60	0.0052
Grupo 60-64	9.17	8.05	10.50	1.639e-05
Grupo 70-74	11.00	9.73	13.40	0.0008

Tabla 20 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) en hombres por grupo etario.

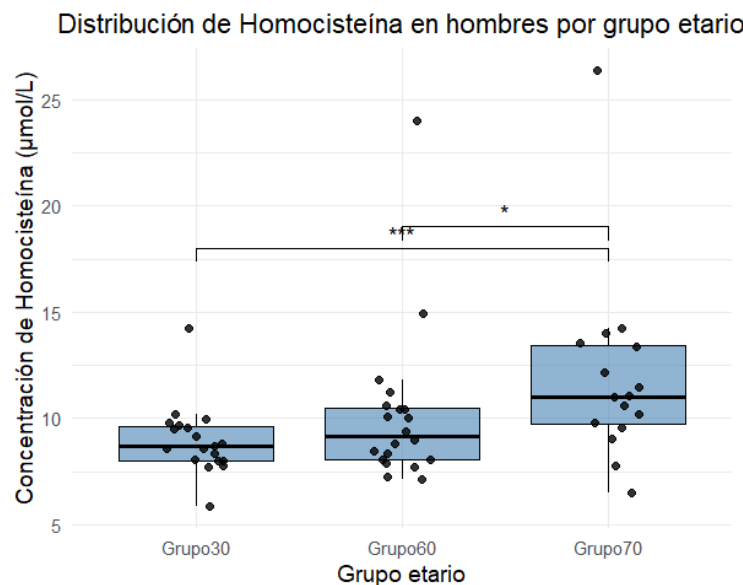
Para identificar entre qué grupos se encontraban estas diferencias, se realizaron comparaciones post-hoc mediante pruebas de U de Mann-Whitney.

Comparación	W	p-value
Grupo 30 vs Grupo 60	152.0	0.296
Grupo 30 vs Grupo 70	61.0	0.002
Grupo 60 vs Grupo 70	97.5	0.048

Tabla 21 Comparaciones por pares de los niveles de homocisteína en hombres entre los grupos etarios mediante la prueba de U de Mann-Whitney.

Los resultados mostraron que los hombres del Grupo 70-74 años presentaron niveles significativamente mayores de homocisteína en comparación con los del Grupo 30-34 años ($p=0.002$) y Grupo 60-64 años ($p=0.048$). Por otro lado, no se observaron diferencias significativas entre los hombres del Grupo de 30-34 años con del Grupo de 60-64 años ($p=0.296$) (Gráfico 12).

Las medianas de homocisteína fueron 8.67 $\mu\text{mol/L}$ para el Grupo 30-34 años, 9.17 $\mu\text{mol/L}$ para el Grupo 60-64 años y 11.0 $\mu\text{mol/L}$ para el Grupo 70-74 años (Figura X).



Gráfica 12 Distribución de los niveles de homocisteína en hombres por grupo etario

7.8.2 Niveles de homocisteína en mujeres por grupo etario

Dado que dos de los tres grupos presentaron una distribución normal, se realizó un análisis de los niveles de homocisteína de acuerdo los grupos etarios que se tienen a través de pruebas no paramétricas.

Grupo	Mediana	P25	P75	p value
Grupo 30-34	7.14	5.62	8.81	0.021
Grupo 60-64	8.00	5.93	9.65	0.150
Grupo 70-74	8.48	7.09	11.90	0.2722

Tabla 22 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) en mujeres por grupo etario.

Para ello se realizó la prueba de Kruskal-Wallis la cual no mostró diferencias significativas globales entre los grupos ($\chi^2 = 4.37$, $gl = 2$, $p = 0.113$). Sin embargo, se realizó un análisis más fino en los datos mediante las comparaciones por pares mediante la prueba de U de Mann-Whitney.

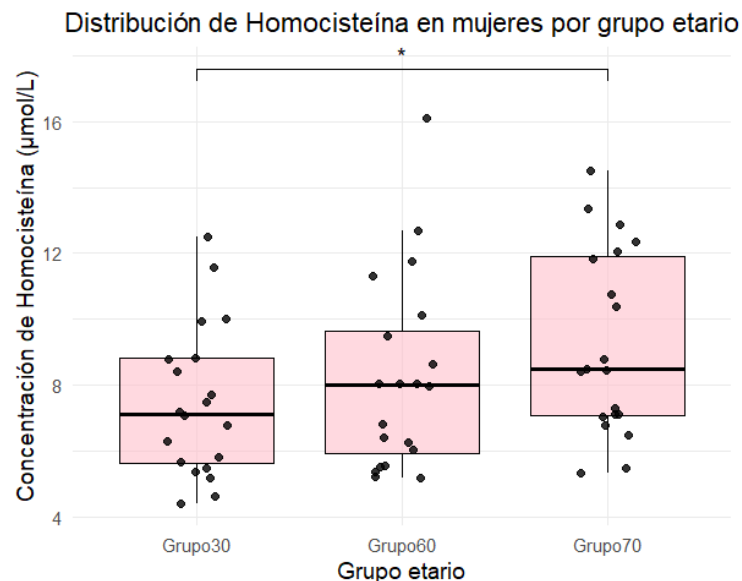
Comparación	W	p-value
-------------	---	---------

Grupo 30 vs Grupo 60	172.5	0.465
Grupo 30 vs Grupo 70	127.0	0.049
Grupo 60 vs Grupo 70	147.0	0.155

Tabla 23 Comparaciones por pares de los niveles de homocisteína en mujeres entre los grupos etarios mediante la prueba de U de Mann-Whitney.

Los resultados de la prueba indicaron que solo existió diferencia significativa entre el Grupo de 30-34 años y el Grupo de 70-74 años (0.049), mientras que las demás comparaciones Grupo de 30-34 años contra Grupo 60-64 años y Grupo 60-64 años contra Grupo 70-74 años no fueron significativos ($p=0.465$ y $p=0.156$, respectivamente).

Las medianas de homocisteína fueron 7.14 $\mu\text{mol/L}$ para el Grupo 30-34 años, 8 $\mu\text{mol/L}$ para el Grupo 60-64 años y 8.48 $\mu\text{mol/L}$ para el Grupo 70-74 años (Gráfico 13).



Gráfica 13 Distribución de los niveles de homocisteína en mujeres por grupo etario

Como se pudo observar en las mujeres, aunque no se detectaron diferencias globales significativas entre los grupos etarios, se observó una tendencia al aumento en el Grupo de 70-74 años, con una diferencia marginal significativa frente al Grupo de 30-34 años.

Esto indica que el análisis de los niveles de homocisteína en función del sexo mostró que, en general, estos aumentos con la edad. Este incremento es más evidente en los hombres, quienes presentan niveles más altos en los grupos etarios mayores.

Sin embargo, a pesar de este aumento, los valores medios se mantienen dentro de los rangos normales establecidos: <10.40 $\mu\text{mol/L}$ para mujeres y <11.40 $\mu\text{mol/L}$ para hombres. Esto sugiere que, aunque se observó un incremento con la edad, los niveles promedio de homocisteína permanecen dentro de los valores considerados normales.

7.8.3 Asociación entre genotipos de MTHFR C677T y A1298C con los niveles séricos de homocisteína

Con el objetivo de explorar un posible impacto de las variantes genéticas del gen MTHFR sobre la homocisteína, se realizó un análisis de las concentraciones séricas en relación con los genotipos MTHFR C677T y A1298C en la cohorte del estudio. Dado que no se observaron diferencias significativas en la distribución de los genotipos entre los distintos grupos etarios, se procedió al análisis del conjunto total de la población, sin estratificar por edad.

Para ello se evaluó la distribución de los niveles séricos de homocisteína fue evaluada mediante la prueba de Shapiro-Wilk, y se observó que los datos no seguían una distribución normal en la mayoría de los genotipos tanto en MTHFR C677T como en MTHFR A1298C ($p < 0.05$).

Variante	Genotipo	n	Mediana (P25–P75)	p Shapiro
Homocisteína				
MTHFR C677T	CC	24	9.67 (8.49–11.0)	0.0146
	CT	57	8.37 (6.50 – 10.40)	2.76×10 ^{–7}
	TT	34	8.26 (7.14 – 10.50)	8.05×10 ^{–5}
MTHFR A1298C	AA	81	8.56 (7.11 – 10.80)	1.60×10 ^{–8}
	AC	29	8.78 (7.75 – 9.95)	0.352
	CC	5	12.7 (8.51 – 13.4)	0.0421

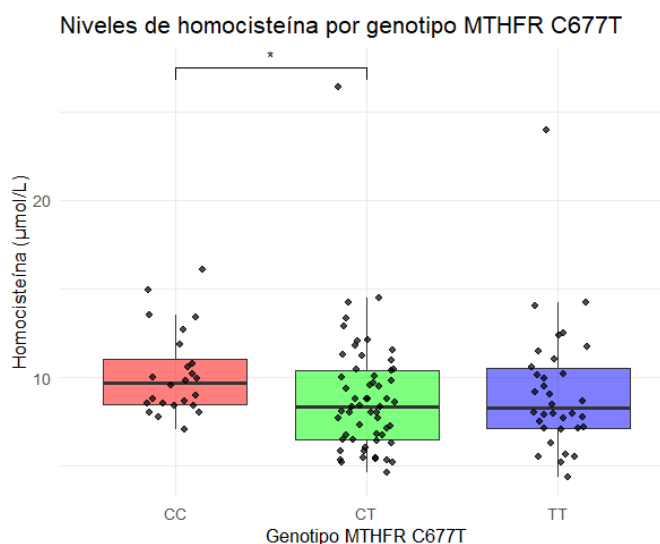
Tabla 24 Medidas de tendencia central de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) por genotipo de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C.

Para evaluar la asociación entre los genotipos de MTHFR y los niveles séricos de homocisteína, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis. En esta prueba se observó que los niveles de homocisteína en el genotipo C677T si existe una diferencia significativa ($\chi^2 = 6.21$, gl = 2, $p = 0.045$), mientras que en el genotipo A1298C no se encontraron diferencias significativas ($\chi^2 = 3.31$, gl = 2, $p = 0.191$).

Ante esto para observar que grupos difieren entre sí se empleó la prueba post hoc de Dunn con correlación con Bonferroni.

Comparación	Z	p sin ajustar	p ajustado (Bonferroni)
CC – CT	2.46	0.014	0.042
CC – TT	1.90	0.057	0.172
CT – TT	-0.42	0.676	1.000

Tabla 25 Comparaciones post-hoc de los niveles de homocisteína entre los genotipos de polimorfismo MTHFR C677T mediante la prueba de U de Mann-Whitney con corrección de Bonferroni.



Gráfica 14 Distribución de los niveles de homocisteína ($\mu\text{mol/L}$) por genotipo del polimorfismo MTHFR C677T.

Los análisis mostraron que los individuos con genotipo heterocigoto CT para el polimorfismo MTHFR C677T presentaron niveles de homocisteína significativamente más altos en comparación con los portadores del genotipo homocigoto CC.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos CT y TT, ni entre CC y TT.

Estos hallazgos describen que la presencia de una sola copia del alelo mutante T podría influir en el metabolismo de la homocisteína, probablemente debido a un cambio en la actividad de la enzima MTHFR.

7.9 Comparación de niveles de Ácido fólico entre grupos de edad

Primero se realizó una prueba de normalidad de los datos de ácido fólico por grupo etario usando la prueba de Shapiro-Wilk, esto nos dio los siguientes resultados:

Grupo	p-value
Grupo 30	0.154
Grupo 60	0.000459
Grupo 70	0.000340

Tabla 26 Resultados de la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk para los niveles de ácido fólico por grupo etario.

Dado que el grupo de 30-34 años presentó una distribución normal, pero el grupo de 60-64 y 70-74 años no se utilizaron como medidas de tendencia central robustas como (mediana, P25-P75) y pruebas no paramétricas.

Grupo	Mediana	P25	P75
Grupo 30	14.0	11.5	18.1
Grupo 60	19.2	14.3	22.6
Grupo 70	14.4	13.2	16.8

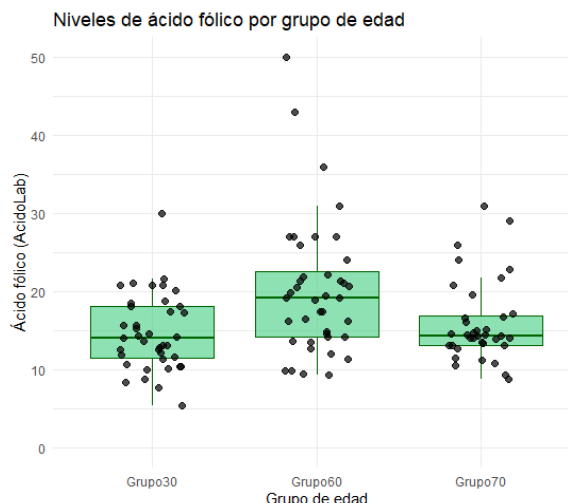
Tabla 27 Medidas de tendencia central de los niveles de ácido fólico ($\mu\text{m/L}$) por grupo etario.

A los datos se les aplicó un análisis global con Kruskal-Wallis el cual mostró diferencias significativas entre los grupos ($\chi^2 = 11.59$, $p = 0.003$). Lo que nos permitió realizar las comparaciones por pares mediante la prueba de Mann Whitney.

Grupo	W	p-vale
Grupo 30 vs Grupo 60	455	0.001461
Grupo 30 vs Grupo 70	600	0.2817
Grupo 60 vs Grupo 70	951.5	0.01624

Tabla 28 Comparaciones por pares de los niveles de ácido fólico ($\mu\text{m/L}$) entre los grupos etarios mediante la prueba de U de Mann-Whitney.

Posteriormente, el análisis post hoc con la prueba de Mann-Whitney U mostró que los niveles de ácido fólico fueron significativamente mayores en el grupo de 60 años en comparación con los grupos de 30 años ($p = 0.0015$) y 70 años ($p = 0.016$). En cambio, no se observaron diferencias significativas entre los grupos de 30 y 70 años ($p = 0.282$).



Gráfica 15 Distribución de los niveles de ácido fólico ($\mu\text{m/L}$) por grupo etario.

7.9.1 Asociación entre genotipos de MTHFR C677T y A1298C con los niveles séricos de Ácido fólico

Se exploró la posible relación entre los genotipos MTHFR y los niveles séricos de ácido fólico, primero se evaluó la normalidad de los datos mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Los resultados indicaron que los datos no siguen una distribución normal ($p < 0.05$), por lo que se reportaron medianas y rangos intercuartílicos.

Variante	Genotipo	n	Mediana (P25–P75)	p Shapiro
Ácido Fólico				
MTHFR C677T	CC	24	14.6 (13.0 – 21.4)	5.840×10^{-5}
	CT	57	14.9 (13.2 – 19.9)	4.370×10^{-2}
	TT	34	15.5 (12.6 – 20.2)	2.060×10^{-3}
MTHFR A1298C	AA	81	15.3 (12.6 – 10.8)	6.210×10^{-5}
	AC	29	14.9 (13.7 – 20.8)	9.430×10^{-6}
	CC	5	14.5 (13.2 – 14.6)	0.284

Tabla 29 Medidas de tendencia central de los niveles séricos de ácido fólico ($\mu\text{m/L}$) por genotipo de los polimorfismos MTHFR C677T y A1298C

Debido a que la mayoría de los datos no cumplían con la normalidad, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis para comparar los niveles de ácido fólico entre los distintos genotipos. Los resultados no muestran diferencias tanto en MTHFR C677T ($\chi^2 = 0.022$, $gl = 2$, $p = 0.9887$) como en MTHFR A1298C ($\chi^2 = 0.592$, $gl = 2$, $p = 0.744$). Esto sugiere que, en esta muestra, los niveles séricos de ácido fólico no varían de manera clara según el genotipo

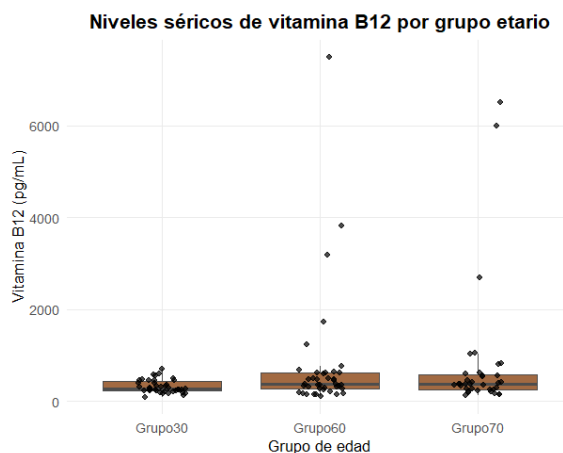
7.10 Comparación de niveles de Vitamina B12 entre grupos de edad

Dado que al realizar la prueba de Shapiro-Wilk ninguno de los grupos mostró una distribución normal ya que todos los análisis se mostraron un p por debajo de 0.05, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal para comparar las concentraciones séricas entre los grupos de edad.

Grupo etario	n	Mediana	P25	P75
Grupo 30	39	277	230	424
Grupo 60	40	365	263	621
Grupo 70	36	372	272	568

Tabla 30 Medidas de tendencia central de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por grupo etario.

Los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de vitamina B12 entre los grupos ($\chi^2 = 5.853$, $gl = 2$, $p = 0.0536$). Sin embargo, se puede llegar a observar una tendencia a la variación de las concentraciones con la edad, aunque sin poder alcanzar la significancia estadística.



Gráfica 16 Distribución de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por grupo etario.

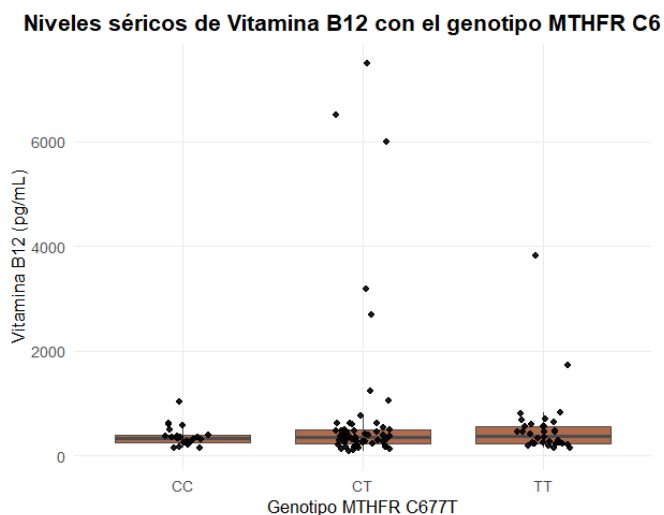
7.10.1 Asociación entre genotipos de MTHFR C677T con los niveles séricos de Vitamina B12

Dado que los valores de vitamina B12 no presentaron una distribución normal, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para comparar los niveles séricos entre los genotipos del polimorfismo MTHFR C677T. En la Tabla 32 se muestran los valores de mediana y los percentiles 25 y 75 (P25–P75) de los niveles séricos de vitamina B12 correspondientes a cada genotipo.

Genotipo	n	Mediana (pg/mL)	P25	P75
MTHFR C677T				
CC	24	332	242	385
CT	57	353	237	488
TT	34	382	238	562

Tabla 31 Medidas de tendencia central de los niveles séricos de vitamina B12 (pg/mL) por genotipo del polimorfismo C677T.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos CC, CT y TT ($\chi^2 = 0.776$, gl = 2, $p = 0.6784$).



Gráfica 17 Distribución de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por genotipo del polimorfismo MTHFR C677T.

7.10.2 Asociación entre genotipos de MTHFR A1298C con los niveles séricos de Vitamina B12

Dado que los datos de vitamina B12 no presentaron una distribución normal, se empleó la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis para comparar las concentraciones séricas de vitamina B12 entre los genotipos del polimorfismo MTHFR A1298C.

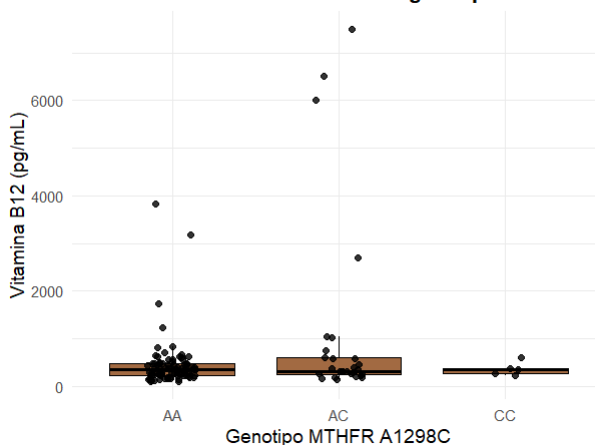
Asimismo, se presenta una tabla con la mediana y los percentiles 25 y 75 (P25–P75) de los niveles de vitamina B12 correspondientes a cada genotipo, la cual muestra que las concentraciones se mantienen similares entre los grupos.

Genotipo	n	Mediana (pg/mL)	P25	P75
MTHFR A1298C				
AA	81	345	233	485
AC	29	317	247	599
CC	5	355	273	371

Tabla 32 Medidas de tendencia central de la Vitamina B12 (pg/mL) en función del genotipo del polimorfismo MTHFR A1298C.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos AA, AC y CC ($\chi^2 = 0.595$, gl = 2, $p = 0.743$).

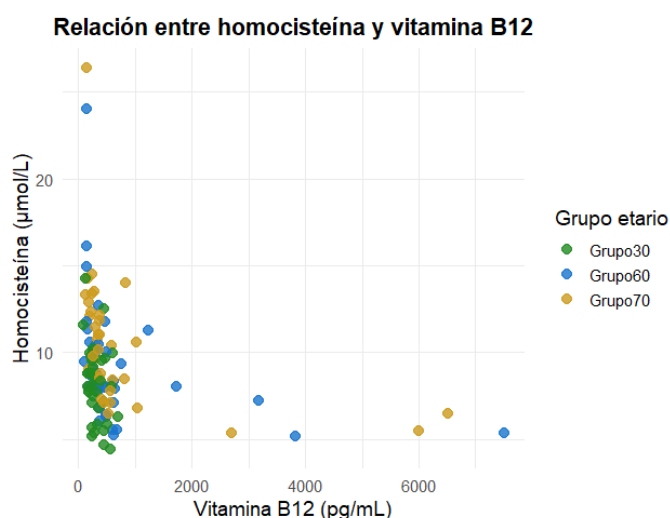
Niveles séricos de vitamina B12 con el genotipo MTHFR A1



Gráfica 18 Distribución de los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por genotipo A1298C.

7.11 Asociación entre la concentración de homocisteína y los niveles séricos de vitamina B12

Para este apartado se analizó la relación entre los niveles séricos de homocisteína y los de vitamina B12 en los participantes, a ellos se les aplicó la prueba de Shapiro-Wilk, ninguna de las dos presentó distribución normal ($p < 1.404e-09$, $p < 2.2e-16$) respectivamente. Esto permitió realizar una correlación no paramétrica de Spearman para evaluar la relación entre ambas variables. El análisis mostró una correlación negativa moderada y estadísticamente significativa entre los niveles de vitamina B12 y homocisteína ($\rho = -0.481$, $p < 0.001$), lo que indica que concentraciones más elevadas de vitamina B12 tienen una tendencia a asociarse con los niveles más bajos de homocisteína en los participantes.



Gráfica 19 Relación entre la concentración de homocisteína (µmol/L) y los niveles séricos de Vitamina B12 (pg/mL) por grupo etario.

8. DISCUSIÓN

8.1 Estimación de longitud telomérica

En este estudio se comparó la longitud relativa de los telómeros entre los adultos jóvenes de 30-34 años y los dos grupos de adultos mayores 60-64 y 70-74 años, utilizando la proporción T/S obtenida por MM-qPCR (Cawthon, 2009), un indicador directo de la longitud telomérica que se ha consolidado como un método estándar de referencia.

La longitud de los telómeros ha sido considerada un marcador del envejecimiento celular, dado que se acorta progresivamente con cada división celular (Blackburn et al, 2015). En numerosos estudios, se le ha atribuido que entre un 30% a un 80% de la variabilidad en la longitud telomérica entre individuos se debe a los factores genéticos,

mientras que el porcentaje restante se atribuye a factores externos, como los ambientales o el estilo de vida (Lin et al, 2011). Sin embargo, diversos estudios han demostrado que existe una relación inversa entre la edad y la longitud telomérica. En 2012 Muezzinler y colaboradores realizaron un metaanálisis que incluyó más de 120 estudios, tanto transversales como longitudinales. En estos se observó una correlación negativa significativa entre la edad y la longitud telomérica media ($r = -0.338$, $p < 0.0001$). En los estudios transversales, se reportó una pérdida promedio de 24.7 pares de bases por año, mientras que los estudios longitudinales mostraron tasas de acortamiento ligeramente mayores que van de 32.2 a 45.5 pares de base por año.

Los hallazgos de este estudio coinciden con lo observado en investigaciones previas, ya que, al comparar la longitud telomérica entre los distintos grupos etarios, se identificaron diferencias significativas entre el grupo de 30-34 y de 60-64 años ($p=0.0284$), mientras que entre el grupo de 30-34 y 70-74 años ($p=0.1215$) y entre 60-64 y 70-74 años ($p=0.4667$) no se observaron diferencias significativas. Para este grupo de participantes saludables se sugiere que el acortamiento telomérico se manifiesta de manera más evidente al comparar adultos jóvenes con adultos mayores, pero este tiene una tendencia a estabilizarse en edades más avanzadas.

Este fenómeno podría explicarse por la acción de células madre hematopoyéticas (HSC), las cuales podrían favorecer una selección positiva de clones celulares más resistentes al acortamiento telomérico o con menor daño genómico. Esto podría contribuir a mantener una longitud telomérica relativamente constante en las etapas más tardías de la vida. En ese sentido, los resultados podrían respaldar que la idea de que la dinámica telomérica no solo depende del ritmo de replicación celular, sino que también de procesos selectivos asociados al envejecimiento hematopoyético y a la eliminación de células con disfunción telomérica (Thongon et al, 2021).

Aunque el acortamiento de los telómeros con la edad es un fenómeno ampliamente documentado, existen limitaciones respecto a la comprensión de los factores que se encargan de modular su variabilidad interindividual. Aspectos como el sexo, exposición al estrés oxidativo, el estado inflamatorio y la genética podrían influir en la tasa del acortamiento telomérico, por lo que se requieren más estudios longitudinales que permitan esclarecer estos determinantes y su interacción con el proceso de envejecimiento.

En este sentido, la segregación de los datos obtenidos de la longitud de los telómeros permitió observar tendencias consistentes con las que se reportan en la literatura. Al realizar una comparación entre los sexos, se encontró que las mujeres presentaban telómeros significativamente más largos que los hombres en la muestra total. Sin embargo, la diferencia más pronunciada se observó en el grupo de 30-34 años, mientras que en el grupo de 60-64 y 70-74 años la diferencia no fue estadísticamente significativa.

Una posible explicación al respecto podría ser la propuesta Lansdorp (2022), sugieren que la longitud telomérica está parcialmente ligada al cromosoma X a través del gen DKC1. Aunque estos resultados presentados coinciden con los reportados por otros estudios (Barrett & Richardson, 2011; Berglund et al., 2016; Aviv et al., 2005) donde se ha descrito que las mujeres suelen tener telómeros más largos que los hombres a lo largo de su vida. Esto lo atribuyen a la diferencia por la acción protectora de los estrógenos, que no solo protegen la telomerasa, sino que también reducen el estrés oxidativo. Debido a esta diferencia los hombres podrían presentar un mayor acortamiento telomérico y estrés oxidativo por la falta de actividad protectora de los estrógenos.

Sin embargo, aunque estos hallazgos indican que el sexo es un factor determinante en la dinámica de la longitud telomérica, particularmente en etapas tempranas de la vida adulta, es importante destacar que con el envejecimiento la pérdida de hormonas en las mujeres provoca que la diferencia en la longitud telomérica entre sexos se reduzca (Factor-Litvak et al, 2016).

8.2 Genotipificación de *hTERT*

La caracterización de la frecuencia de los genotipos y alelos de la variante *VNTR MNS16A* nos podría permitir evaluar si es que existe una distribución diferencial en función de la edad y poder observar si la variabilidad genética podría influir sobre la longitud telomérica.

En función a eso lo primero que se observó fue la distribución de los genotipos LL, SL y SS en la población del estudio fue similar entre los grupos etarios (30-34, 60-64 y 70-74 años), sin embargo, si bien la distribución genotípica general se presenta homogénea, el genotipo LL exhibió una frecuencia más alta de forma sistemática en todos los grupos, manteniendo su predominancia por encima del 60%.

A su vez se observó que tanto la frecuencia de los alelos cortos (S) y largos (L), como la de los alelos específicos (243, 272, 302 y 333), no presentaban diferencias estadísticamente significativas. Asimismo, se destacó que la combinación alélica, más frecuente fue la 302/302. Estos resultados sugieren que la composición genética de esta región del *VNTR MNS16A* se mantiene relativamente estable dentro de esta población.

Además, al evaluar la relación entre los genotipos LL, SL, SS con la longitud telomérica se aplicaron pruebas no paramétricas esto debido a que los datos no presentaban normalidad por medio de Shapiro Wilk, tras aplicarles Kruskal-Wallis tampoco se mostraron diferencias significativas ($\chi^2 = 1.479$, $df = 2$, $p = 0.477$), esto apunta a que no existe en esta población una evidencia de que la variante de *MNS16A* influya sobre la longitud de los telómeros.

Esto nos permite observar que los resultados son consistentes con los reportados en la literatura en otras poblaciones (Jin et al., 2011; Hofer et al, 2017; Wysoczanska et al., 2019, Anwar et al, 2021) aunque los estudios que se realizan con *MNS16A* lo ha desarrollado en diferentes tipos de cáncer (colorrectal, pulmón próstata, vejiga), leucemia

entre otros solo por mencionar algunos en donde se observa una influencia limitada o dependiente de otras condiciones como el estrés celular o patologías, no obstante en todos esos estudios se observa la predominancia del genotipo LL y la estabilidad de los alelos S y L en todos los grupos que han sido estudiados, esto permite observar que una que la variante de *MNS16A* puede modular la expresión de *hTERT* su efecto sobre la longitud telomérica debe estar condicionado a otros factores genéticos, ambientales o incluso al estilo de vida como la dieta o la exposición a factores inflamatorios (Aviv et al., 2005; Barrett & Richardson, 2011).

Por lo tanto, la combinación de estabilidad genotípica y la ausencia del efecto sobre la longitud de los telómeros podría indicar que el *VNTR MNS16A* actúa como un modulador potencial de la telomerasa cuyo impacto funcional podría manifestarse bajo condiciones específicas de estrés o enfermedad, más que como un determinante directo del acortamiento telomérico durante la vida adulta.

8.3 Genotipificación de *MTHFR* de la variante 677C>T y 1298A>C

El objetivo de este análisis fue determinar la genotipificación de las variantes 677C>T (rs1801133) y 1298A>C (rs1801131) del gen *MTHFR*, con el propósito de evaluar cómo se distribuyen estos polimorfismos entre los grupos etarios incluidos en el estudio. Asimismo, se exploró su posible efecto combinado sobre la longitud telomérica.

Este enfoque permitió analizar la interacción entre ambas variantes y su potencial influencia en el mantenimiento telomérico, considerando el papel metabólico del gen *MTHFR* en la disponibilidad de folatos y grupos metilo, elementos esenciales para la síntesis y reparación de ADN (Ducker & Rabinowitz, 2017).

Los resultados mostraron que para la variante 677C>T, la distribución de los genotipos mostró que CT fue el de mayor frecuencia, seguido del CC y finalmente TT, por ello se pudo observar que al colocar la frecuencia alélica el alelo C tuvo un predominio sobre el T. Esta distribución se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg, lo cual indicó que existe estabilidad genética en esta población y la ausencia de sesgo de selección, lo que refleja una distribución natural esperada. Este patrón es consistente con lo reportado por Contreras-Cubas et al. (2016) en población mexicana, quienes al igual que en el presente estudio, describen un predominio del heterocigoto CT y una mayor frecuencia del alelo C. De manera similar, estudios realizados en algunas regiones en México han observado una distribución comparable y realmente estable de estos genotipos (Leal-Ugarte et al., 2019; Antonio-Véjar et al., 2014).

Para la variante 1298A>C, el genotipo AA fue el que presentó mayor prevalencia, seguido de AC y al final el CC, este último es el de menor prevalencia tanto que en el grupo de 30-34 años no se observó ni un individuo que lo presentara. Por otra parte, el alelo A predominó sobre el alelo C y se observó que los genotipos también se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg. Este hallazgo concuerda con los reportes

de Contreras-Cubas et al. (2016) y otros estudios como López-Cortés et al (2015) en los cuales también se observó que el genotipo AA se encuentra mayoritariamente en la población y el alelo C es menos frecuente.

Posteriormente al analizar el efecto combinado de ambas variantes sobre la longitud telomérica, se observó que todas las combinaciones (677/1298) de los genotipos presentes en nuestra población de estudio (CC/AA, CT/AA, TT/AA, CC/AC, CT/AC, CC/CC) mostraron medidas similares. Aunque las combinaciones CT/AC y TT/AA fueron las más frecuentes, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 2.2387$, $gl = 5$, $p = 0.8152$). Por lo que, estos datos sugieren que, dentro de esta muestra, la interacción entre las variables MTHFR 677C>T y 1298A>C no se asocia de manera observable con la longitud telomérica. Sin embargo, en la literatura no existe un consenso al respecto ya que algunos estudios como Paul L et al (2009) no muestra un efecto directo entre MTHFR y longitud telomérica; más bien lo menciona como un efecto débil y más bien que eso depende del estado nutricional del folato. Por otro lado, Moores et al (2011) no establece un efecto directo, pero sí plantea que los polimorfismo en genes como MTHFR podrían influir directamente en la longitud y función de los telómeros, especialmente en deficiencia de folatos.

Por otro lado, cabe destacar que hay estudios funcionales donde se muestra que la actividad de la enzima *MTHFR* se reduce de manera diferenciada de acuerdo con el genotipo: aquí se observó que la mutación 1298A>C disminuye la actividad a un 68%, la 677C>T al 45%, mientras que la combinación de ambas mutaciones reduce la actividad, hasta en un 41% respecto al control. Aun cuando la 1298A>C no sea capaz de afectar la termolabilidad de la enzima la combinación de dichas mutaciones se ha asociado a niveles más elevados de homocisteína plasmática.

Por ello, resulta pertinente explorar si el estado nutricional de los folatos, como los niveles de homocisteína, pueden verse modulados por las variantes de MTHFR, o si factores como la edad o el sexo podrían influir en la relación de los niveles de homocisteína y la longitud telomérica.

8.4 Homocisteína: comparación por edad, sexo y variantes de MTHFR

En esta sección al analizar los niveles de homocisteína por grupo etario, se observó que el grupo de 70-74 años respecto al de 30-34 años presentó niveles significativamente mayores, este resultado presenta una similitud con la evidencia de que los niveles de homocisteína tienden a aumentar conforme aumenta la edad, lo cual podría estar relacionado con una menor eficiencia en la remetilación de la homocisteína, deficiencias nutricionales, disminución de la función renal y/o alteraciones en el ciclo de la metionina que cambian durante el envejecimiento (Ostrakhovitch & Tabibzadeh, 2018).

Al realizar análisis con la variable de sexo, en el grupo masculino se presentó que los hombres de 70-74 años tuvieron niveles más altos de homocisteína con respecto a los de 30-34 y 60-64 años. Por otro lado, en el grupo femenino solo se encontró una diferencia significativa entre el grupo de 30-34 y 70-74 años. Estos resultados apuntan a una similitud con lo que se describe en la literatura ya que los hombres tienen mayores niveles de homocisteína en comparación con las mujeres y se ha observado que tras pasar los 50 años el incremento se vuelve más agudo (Xu et al, 2020). En este apartado es importante notar, que, a pesar de dichas diferencias, las medianas de homocisteína de los grupos por sexo permanecieron dentro de los rangos normales establecidos ($<10.40 \mu\text{mol/L}$ para mujeres y $<11.40 \mu\text{mol/L}$ para hombres), lo que sugiere que para este grupo de individuos se encuentran dentro de un perfil saludable para homocisteína.

Por último, la comparación que se realiza entre homocisteína y los polimorfismos de MTHFR, los resultados demostraron que para la variante C677T se asoció significativamente con los niveles de homocisteína ($\chi^2 = 6.21$, $gl = 2$, $p = 0.045$), mientras que para la variante A1298C no se encontraron diferencias significativas ($\chi^2 = 3.31$, $gl = 2$, $p = 0.191$). Particularmente, los individuos que presentan un genotipo CT del polimorfismo 677 mostraron niveles más altos de homocisteína en comparación con los de CC. Este resultado se alinea con los estudios (Chango et al, 2000 ; Wang et al, 2017;) que se han realizado donde la variante C677T impacta la actividad enzimática de la MTHFR, por ello, se acumula la homocisteína, mientras que la variante A1298C tiene un efecto débil incluso nulo sobre este biomarcador.

En conjunto, estos resultados indican que el aumento de la homocisteína con la edad y la variante C677T de MTHFR son factores relevantes en esta población, sin embargo, que la mayoría de los individuos se mantengan dentro de los rangos normales podría indicar un estado nutricional adecuado y un buen metabolismo funcional. Considerando que la elevación leve de homocisteína se ha vinculado con deterioro funcional, envejecimiento vascular y riesgo de fragilidad, resulta importante seguir monitoreando este biomarcador (Kado et al, 2002).

8.5 Ácido fólico: comparación por edad y variantes de MTHFR

Se realizó este análisis ya que se conoce que el Ácido fólico (Vitamina B9) juega un papel importante dentro de la metilación del ADN, síntesis de nucleótidos y el metabolismo de la homocisteína, que se ha vinculado con el envejecimiento como con la salud vascular y celular en adultos mayores (García A, 2011).

Para los análisis por grupo etario se encontró que el grupo de 60-64 años presentó niveles de ácido fólico con respecto de los grupos de 30-34 y 70-74 años. Este patrón lo que podría indicar que para esta cohorte de edad la población de mediana edad como los de 60-64 años tienen un mejor estado nutricional o mejor absorción de los folatos que los jóvenes o los de mayor edad. Esto concuerda con la literatura, ya que se ha reportado que los niveles de folato tienden a aumentar a medida que un individuo envejece, esto con razón de la fortificación alimentaria, aunque después de cierta edad puede

estabilizarse o bien disminuir debido a las alteraciones en la absorción o incluso en su metabolismo (García A, 2011). Sin embargo, se podría hipotetizar que el valor bajo del grupo de 70-74 años con respecto a los de 60-64 podría reflejar un deterioro en el mecanismos de absorción o un mayor desgaste metabólico.

Por otra parte, al relacionar los niveles de ácido fólico con los genotipos de MTHFR (C677T y A1298C), los resultados no mostraron diferencias significativas para ninguno de los dos polimorfismos (C677T: $\chi^2 = 0.022$, $df = 2$, $p = 0.9887$; A1298C: $\chi^2 = 0.592$, $df = 2$, $p = 0.744$). Lo que sugiere que, para esta muestra, los niveles séricos de ácido fólico no varían de acuerdo con este genotipo. Se podría pensar que el hecho por el cual los efectos del genotipo sobre el metabolismo del folato se encuentran atenuados podría ser por un buen estado nutricional general o incluso por otros factores. Además, aunque el folato es clave para el metabolismo de la homocisteína, la ausencia de asociación con los genotipos de MTHFR aquí puede indicar que la variabilidad en ácido fólico está más influenciada por factores dietéticos y ambientales que por la genética en esta cohorte.

8.6 Vitamina B12: comparación por edad y variantes de MTHFR

Se realizó el análisis de la vitamina B12 ya que es un micronutriente esencial involucrado en la síntesis de ADN, el metabolismo de la homocisteína y la función neuronal. Este es importante ya que cuando se encuentra a la baja puede asociarse con anemia, deterioro cognitivo y alteraciones en la metilación lo cual podría acentuarse con el envejecimiento (Shipton & Thachil, 2015).

Sin embargo, al asociar la vitamina con la edad de los participantes se observó que no hubo diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 5.853$, $gl = 2$, $p = 0.0536$). Pero lo que sí se observó fue que se presentó una tendencia a la disminución de los niveles con la edad, aunque sin alcanzar una significancia estadística. Este patrón coincide con lo reportado en la literatura (Wong et al, 2015) donde los niveles de B12 suelen mostrar diferencias debido a la dieta, absorción y estado funcional gastrointestinal.

Posteriormente, se analizó la asociación entre la B12 y las variantes de C677T y A1298C, en ellos no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los grupos genotípicos (C677T: $\chi^2 = 0.776$, $gl = 2$, $p = 0.6784$). Estos resultados sugieren que para la población estudiada el gen MTHFR no afecta las concentraciones de Vitamina B12 séricas. Esto está reportado en estudios donde indican que las mutaciones de MTHFR tienen un efecto principal en la conversión de 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metiltetrahidrofolato y, por tanto, influyen de manera directa a los niveles de homocisteína (Frosst et al., 1995).

Asimismo, la concentración de B12 depende más de la ingesta dietética y de la absorción intestinal que del genotipo MTHFR, por lo que la variabilidad genética podría tener un papel secundario o indirecto.

8.7 Asociación entre los niveles séricos de vitamina B12 y homocisteína

Y para finalizar se realizó un análisis para conocer si hay una asociación entre B12 y homocisteína, aquí se presentó una correlación negativa moderada y estadísticamente significativa ($\rho = -0.481$, $p < 0.001$), la cual es congruente con el mecanismo del metabolismo del ciclo de la metionina, en el cual la B12 actúa como un cofactor esencial de la enzima metionina sintasa, encargada de la remetilación de la homocisteína a metionina (Froese et al, 2018). Por lo tanto, la deficiencia de la B12 provoca una acumulación de homocisteína en plasma, fenómeno que ha sido ampliamente documentado en la literatura (Smith & Refsum, 2021).

Es por ello que el mantenimiento de concentraciones adecuadas de B12 es relevante no solo para evitar niveles altos de homocisteína, sino también por sus posibles implicaciones en la salud cardiovascular y el envejecimiento. Se ha propuesto que niveles elevados de homocisteína pueden inducir daño endotelial y estrés oxidativo, contribuyendo a procesos de envejecimiento celular acelerado y acortamiento telomérico (Ho et al., 2019).

9. CONCLUSIÓN

Este estudio permitió integrar distritos niveles del análisis molecular para que de esta manera se pudieran comprender los factores asociados al envejecimiento saludable en una población mexicana. Los resultados mostraron que, si bien la longitud telomérica disminuye de manera natural con la edad, dentro de la población de estudio existen individuos que son adultos mayores que preservan una longitud similar e incluso superior a los de los adultos jóvenes, por lo que esto sugiere que es probable que existan mecanismos protectores que modulan este proceso.

Para la relación con los factores genéticos, específicamente de las variantes analizadas (hTERT, MTHFR 677 y 1298) se presentaron patrones de distribución similares a las reportadas en otras poblaciones. No obstante, la combinación de ciertos genotipos podría favorecer un mantenimiento más estable de la longitud telomérica e incluso un metabolismo del folato más eficiente. Estas observaciones apoyan la hipótesis de que las diferencias genéticas individuales podrían ser capaces de influir en la integridad genómica, y, por tanto, en la capacidad del envejecimiento saludable.

Aunque no fueron observadas diferencias estadísticamente significativas para los niveles séricos de ácido fólico y vitamina B12 entre los grupos etarios, se pudo identificar una tendencia a la variación de estos biomarcadores con la edad, que se acompaña con una ligera elevación de la homocisteína en los adultos mayores. Por lo que este

comportamiento podría causar alteraciones sutiles en la eficiencia metabólica del folato que, junto con el perfil genético se encargan de modular el equilibrio redox y la estabilidad del ADN.

Esta investigación tuvo como objetivo poder resaltar la importancia de considerar tanto los determinantes genéticos como los biomarcadores metabólicos para caracterizar el envejecimiento saludable. Además, abre una brecha muy grande de información sobre la población mexicana de la cual no se conoce esta evidencia en relación con las variantes genéticas de hTERT, así como de las de MTHFR, la longitud de telómeros, así como los marcadores del metabolismo de folatos.

Por último, se recomienda poder realizar estudios con poblaciones más amplias y representativas, que permita aumentar el poder estadístico y explorar con mayor profundidad las interacciones vistas en esta investigación. Y a medida que se generen mayor investigaciones respecto a este campo, en un futuro se podría realizar un metaanálisis, lo que permitirá consolidar o fortalecer o incluso modificar las conclusiones sobre los factores moleculares implicados en el envejecimiento saludable. De esta manera, se podría avanzar hacia la identificación de perfiles moleculares asociados con el mantenimiento de la salud y la longevidad de los individuos en el envejecimiento.

10. REFERENCIAS

1. Alnafakh, R. A. A., Adishesh, M., Button, L., Saretzki, G., & Hapangama, D. K. (2019). Telomerase and Telomeres in Endometrial Cancer. *Frontiers In Oncology*, 9, 344. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00344>
2. Antonio-Véjar V, Del Moral-Hernández O, Alarcón-Romero LC, Flores-Alfaro E, Leyva-Vázquez MA, Hernández-Sotelo D, Illades-Aguilar B. Ethnic variation of the C677T and A1298C polymorphisms in the methylenetetrahydrofolate-reductase (MTHFR) gene in southwestern Mexico. *Genet Mol Res*. 2014 Sep 29;13(3):7950-7. doi: 10.4238/2014.September.29.8. PMID: 25299110.
3. Anwar, I., Arshad, A., Mohammad, W., Hyder, M., Meena, G., Aabid, K., Zafar, A., Manzoor, U., Amin, I & Qasim, I. (2021). Analysis of MNS16A VNTR polymorphic sequence variations of the TERT gene and associated risk for development of bladder cancer. *Curr Urol*: 15(4): 225–230. doi: 10.1097/CU9.0000000000000040
4. Apitz-Castro, R. (2015). Los niveles de ácido fólico en la población venezolana y su impacto en el área de salud pública. *Anales Venezolanos de Nutrición*, 28(1), 21-27. https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-07522015000100004&lng=es
5. Aviv, A., Shay, J., Christensen, K., & Wright, W. (2005). The longevity gender gap: Are telomeres the explanation? *Sci Aging Knowledge Environ.*, 2005(23), pe16. <https://doi.org/10.1126/sageke.2005.23.pe16>
6. Bahari G, Hashemi M, Naderi M, Taheri M. Association between Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene Polymorphisms and Susceptibility to Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in an Iranian Population. *Int J Hematol Oncol Stem Cell Res*. 2016 Jul 1;10(3):130-7. PMID: 27489588; PMCID: PMC4969557.
7. Bao, H., Cao, J., Chen, M., Chen, M., Chen, W., Chen, X., Chen, Y., Chen, Y., Chen, Y., Chen, Z., Chhetri, J. K., Ding, Y., Feng, J., Guo, J., Guo, M., He, C., Jia, Y., Jiang, H., Jing, Y., . . . Liu, G. (2023). Biomarkers of aging. *Science China Life Sciences*, 66(5), 893-1066. <https://doi.org/10.1007/s11427-023-2305-0>
8. Barrett, E. L. B., & Richardson, D. S. (2011). Sex differences in telomeres and lifespan. *Aging Cell*, 10(6), 913–921. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2011.00741.x>
9. Berglund, K., Reynolds, C. A., Ploner, A., Gerritsen, L., Hovatta, I., Pedersen, N. L., & Hägg, S. (2016). Longitudinal decline of leukocyte telomere length in old age and the association with sex and genetic risk. *Aging (Albany NY)*, 8(7), 1398–1415. <https://doi.org/10.18632/aging.100995>
10. Blackburn, E. H., Epel, E. S., & Lin, J. (2015). Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science*, 350(6265), 1193-1198. <https://doi.org/10.1126/science.aab3389>

11. Blasco MA. Telomeres and human disease: aging, cancer, and beyond. *Nat Rev Genet.* 2005;6:611-622.
12. Budak, S., Polat, F., & Bingol, G. (2019). The MNS16A VNTR polymorphism of the TERT gene in bladder cancer. *Turk J Urol.* 2019 Nov 29;46(1):44–49. doi: 10.5152/tud.2019.19005
13. Buxton, JL, Suderman, M., Pappas, JJ, Borghol, N., McArdle, W., Blakemore, AI, et al. (2014). Human leukocyte telomere length is associated with DNA methylation levels at multiple subtelomeric and imprinted loci. *Sci. Rep.* 4:4954. doi: 10.1038/srep04954
14. Calado R, Young N. Telomeres in disease. *F1000 Med Rep.* 2012;4:8. doi: 10.3410/M4-8. Epub 2012 Apr 2. PMID: 22500192; PMCID: PMC3318193.
15. Cawthon RM. Telomere length measurement by a novel monochrome multiplex quantitative PCR method. *Nucleic Acids Res.* 2009 Feb;37(3):e21. doi: 10.1093/nar/gkn1027. Epub 2009 Jan 7. PMID: 19129229; PMCID: PMC2647324.
16. Chango, A. et al. The effect of 677C→T and 1298A→C mutations on plasma homocysteine and 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase activity in healthy subjects. *Br J Nutr* 83, 593-596 (2000).
17. Chen, W., et al. (2021). Dynamics of leukocyte telomere length in adults aged 50 and older: A longitudinal population-based cohort study. *GeroScience*, 43, 1585–1597.
<https://doi.org/10.1007/s11357-021-00438-w>
18. Chopin, M. (2012). Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. *Investigación en discapacidad*. Vol.1, Núm. 2. pp.86-89.
19. Choudhury, SR, Cui, Y., Narayanan, A., Gilley, DP, Huda, N., Lo, CL, et al. (2016). Optogenetic regulation of subtelomeric DNA methylation at specific sites. *Oncotarget* 7, 50380–50391. doi: 10.18632/oncotarget.10394
20. CONAPO. (2021). Programa Institucional del Instituto Nacional de las Personas Adultas Mayores 2021-2024.
https://www.dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5616097#:~:text=Para%2024%2C%20al%20final%20de,del%204%25%20durante%20este%20sexenio.
21. Cong, Y., Wright, W. E., & Shay, J. W. (2002). Human Telomerase and Its Regulation. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 66(3), 407-425.
<https://doi.org/10.1128/mmb.66.3.407-425.2002>
22. Consejo Nacional de Población. (2010). Proyecciones de la población de México 2010–2050. CONAPO.
<https://www.gob.mx/conapo>
23. Contreras-Cubas C, Sánchez-Hernández BE, García-Ortiz H, Martínez-Hernández A, Barajas-Olmos F, Cid M, et al. (2016) Heterogenous Distribution of MTHFR

Gene Variants among Mestizos and Diverse Amerindian Groups from Mexico. PLoS ONE 11(9): e0163248. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163248>

24. Coppé JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol.* 2010;5:99-118. doi: 10.1146/annurev-pathol-121808-102144. PMID: 20078217; PMCID: PMC4166495.

25. Cottliar, A & Slavutsky, I. (2001). Telomeres and telomerase activity: Their role in aging and neoplastic development. *MEDICINA (Buenos Aires)* 61: 335-342.

26. Day K, Waite LL, Thalacker-Mercer A, West A, Bamman MM, Brooks JD, Myers RM, Absher D. Differential DNA methylation with age displays both common and dynamic features across human tissues that are influenced by CpG landscape. *Genome Biol.* 2013;14(9):R102. doi: 10.1186/gb-2013-14-9-r102. PMID: 24034465; PMCID: PMC4053985.

27. de Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev.* 2005 Sep 15;19(18):2100-10. doi: 10.1101/gad.1346005. PMID: 16166375.

28. DGE. (2020). Base de datos de la sección de datos abiertos de COVID-19 de la dirección Nacional de Epidemiología. <https://www.gob.mx/salud/documentos/datos-abiertos-152127>

29. Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, Medrano EE, Linskens M, Rubelj I, Pereira-Smith O, et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Sep 26;92(20):9363-7. doi: 10.1073/pnas.92.20.9363. PMID: 7568133; PMCID: PMC40985.

31. Ducker, G. S., & Rabinowitz, J. D. (2017). One-Carbon Metabolism in Health and Disease. In *Cell Metabolism* (Vol. 25, Issue 1, pp. 27–42). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.08.009>

32. Engelfriet PM, Jansen EH, Picavet HS, Dollé ME. Biochemical markers of aging for longitudinal studies in humans. *Epidemiol Rev.* 2013;35(1):132-51. doi: 10.1093/epirev/mxs011. Epub 2013 Feb 4. PMID: 23382477; PMCID: PMC4707878.

33. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, Dhabhar FS, Adler NE, Morrow JD, Cawthon RM. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Dec 7;101(49):17312-5. doi: 10.1073/pnas.0407162101. Epub 2004 Dec 1. PMID: 15574496; PMCID: PMC534658.

34. Factor-Litvak P, Susser E, Kezios K, McKeague I, Kark JD, Hoffman M, Kimura M, Wapner R, Aviv A. Leukocyte Telomere Length in Newborns: Implications for the Role of Telomeres in Human Disease. *Pediatrics.* 2016 Apr;137(4):e20153927. doi: 10.1542/peds.2015-3927. Epub 2016 Mar 11. PMID: 26969272; PMCID: PMC4811318.

35. FDA-NIH Biomarker Working Group. (2016). Glossary. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource, Food and Drug Administration (US).
36. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E, De Benedictis G. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci.* 2000 Jun;908:244-54. doi: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb06651.x. PMID: 10911963.
37. Froese, DS, Kopec, J., Rembeza, E. et al. Structural basis for the regulation of human 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase by phosphorylation and S-adenosylmethionine inhibition. *Nat Commun* 9, 2261 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04735-2>
38. Froese, DS; Fowler, B.; Baumgartner, MR. Vitamin B12, folate, and the methionine remethylation cycle: biochemistry, pathways, and regulation. *J. Inher Metab. Dis.* 2019, 42, 673–685.
39. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A common genetic risk factor for vascular disease: a mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Nat Genet.* 1995;10(1):111–3. PMID: 7647779.
40. Garcia A. Folic acid in older adults. *CMAJ.* 2011 Apr 19;183(7):827. doi: 10.1503/cmaj.111-2040. PMID: 21502368; PMCID: PMC3080539.
41. Ghanim, G.E., Sekne, Z., Balch, S. et al. 2.7 Å cryo-EM structure of human telomerase H/ACA ribonucleoprotein. *Nat Commun* 15, 746 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-45002-x>
42. González-Devia, J & Mendieta-Zerón (2013). Hiperhomocisteinemia/homocisteinuria como factor de riesgo cardiovascular en niños y adolescentes. *Rev. Costarr. Cardiol.* 2013. Volumen 15, N.o 2.
43. Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H, de Lange T. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell.* 1999 May 14;97(4):503-14. doi: 10.1016/s0092-8674(00)80760-6. PMID: 10338214.
44. Guerville, F., De Souto Barreto, P., Ader, I. et al. Revisiting the Hallmarks of Aging to Identify Markers of Biological Age. *J Prev Alzheimers Dis* 7, 56–64 (2020). <https://doi.org/10.14283/jpad.2019.50>
45. Hayflick L. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* 1965 Mar;37:614-36. doi: 10.1016/0014-4827(65)90211-9. PMID: 14315085.
46. Ho, R. C., Cheung, M. W., Fu, E., Win, H. H., Zaw, M. H., Ng, A., & Mak, A. (2019). Is high homocysteine level a risk factor for depression and dementia? A meta-analysis of 18 studies. *Journal of Psychiatric Research*, 109, 134–145.

47. Hofer P, Zöchmeister C, Behm C, Brezina S, Baierl A, Doriguzzi A, Vanas V, Holzmann K, Sutterlüty-Fall H, Gsur A. MNS16A tandem repeat minisatellite of human telomerase gene: functional studies in colorectal, lung and prostate cancer. *Oncotarget*. 2017 Apr 25;8(17):28021-28027. doi: 10.18632/oncotarget.15884.
48. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol*. 2013;14(10):R115. doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115. Erratum in: *Genome Biol*. 2015 May 13;16:96. doi: 10.1186/s13059-015-0649-6. PMID: 24138928; PMCID: PMC4015143.
49. INEGI.(2021). ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA INTERNACIONAL DE LAS PERSONAS ADULTAS MAYORES.COMUNICADO DE PRENSA NÚM. 547/21.https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2021/EAP_ADUL_MAYOR_21.pdf
50. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), & Centro de Investigación y Docencia Económicas (CIDE). (2018). Estudio Nacional de Salud y Envejecimiento en México (ENASEM), 2018. INEGI. <https://www.inegi.org.mx/programas/enasem/>
51. Jin, G., et al. (2011). Dual roles of a variable number of tandem repeat in the TERT gene promoter region. *Cancer Science*, 102(9), 1526–1532.
52. Kado, D. M., Bucur, A., Selhub, J., Rowe, J. W., & Seeman, T. (2002). Homocysteine levels and decline in physical function: MacArthur studies of successful aging. *The American Journal Of Medicine*, 113(7), 537-542. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(02\)01269-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(02)01269-x)
53. Kang SS, Wong PWK, Susmano A, Sora J, Norusis M (1991) Thermolabile methylenetetrahydrofolate reductase: an inherited risk factor for coronary disease. *Am J Hum Genet* 48, 536–545
54. Kirkwood, T. B. (2005). Understanding the Odd Science of Aging. *Cell*, 120(4), 437-447. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.01.027>
55. Lansdorp PM. Sex differences in telomere length, lifespan, and embryonic dyskerin levels. *Aging Cell*. 2022 May;21(5):e13614. doi: 10.1111/accel.13614.
56. Leal-Ugarte E, Peralta-Leal V, Meza-Espinoza JP, Durán-González J, Macías-Gómez N, Bocanegra-Alonso A, Lara-Ramos JR. Association of the MTHFR 677C>T Polymorphism with Obesity and Biochemical Variables in a Young Population of Mexico. *J Med Biochem*. 2019 Jan 22;38(4):461-467. doi: 10.2478/jomb-2018-0046. PMID: 31496910; PMCID: PMC6708291.
57. Leclerc D, Sibani S, Rozen R. Molecular Biology of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) and Overview of Mutations/Polymorphisms. In: *Madame Curie Bioscience Database [Internet]*. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000-2013. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6561/?utm_source=chatgpt.com

58. Li Z., Zhang Z., Ren Y., Wang Y., Fang J., Yue H., Ma S., Guan F. Aging and age-related diseases: From mechanisms to therapeutic strategies. *Biogerontology*. 2021;22:165–187. doi: 10.1007/s10522-021-09910-5.
59. Lin J, Epel E, Blackburn E. Telomeres and lifestyle factors: roles in cellular aging. *Mutat Res*. 2012 Feb 1;730(1-2):85-9. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.08.003. Epub 2011 Aug 22. PMID: 21878343.
60. Lin J, Epel E, Blackburn E. Telomeres and lifestyle factors: roles in cellular aging. *Mutat Res*. 2012 Feb 1;730(1-2):85-9. doi: 10.1016/j.mrfmmm.2011.08.003. Epub 2011 Aug 22. PMID: 21878343.
61. Lin J, Epel E, Cheon J, Kroenke C, Sinclair E, Bigos M, Wolkowitz O, Mellon S, Blackburn E. Analyses and comparisons of telomerase activity and telomere length in human T and B cells: insights for epidemiology of telomere maintenance. *J Immunol Methods*. 2010 Jan 31;352(1-2):71-80. doi: 10.1016/j.jim.2009.09.012. Epub 2009 Oct 21. PMID: 19837074; PMCID: PMC3280689.
62. Lin, J., Epel, E., & Blackburn, E. (2011). Telomeres and lifestyle factors: Roles in cellular aging. *Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, 730(1-2), 85-89. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.08.003>
63. López-Cortés A, Echeverría C, Oña-Cisneros F, Sánchez ME, Herrera C, Cabrera-Andrade A, Rosales F, Ortiz M, Paz-Y-Miño C. Breast cancer risk associated with gene expression and genotype polymorphisms of the folate-metabolizing MTHFR gene: a case-control study in a high altitude Ecuadorian mestizo population. *Tumour Biol*. 2015 Aug;36(8):6451-61. doi: 10.1007/s13277-015-3335-0. Epub 2015 Mar 24. PMID: 25801246.
64. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153:1194-217.
65. López-Otín, C., Blasco, M., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2023). Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*.19;186(2):243-278. doi: 10.1016/j.cell.2022.11.001. Epub 2023 Jan 3. PMID: 36599349.
66. Lü MH, Liao ZL, Zhao XY, Fan YH, Lin XL, Fang DC, Guo H, Yang SM. hTERT-based therapy: a universal anticancer approach (Review). *Oncol Rep*. 2012 Dec;28(6):1945-52. doi: 10.3892/or.2012.2036. Epub 2012 Sep 17. PMID: 22992764.
67. Ludlow AT, Zimmerman JB, Witkowski S, Hearn JW, Hatfield BD, Roth SM. Relationship between physical activity level, telomere length, and telomerase activity. *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Oct;40(10):1764-71. doi: 10.1249/MSS.0b013e31817c92aa. PMID: 18799986; PMCID: PMC2581416.
68. Mallhi, T. H., Shahid, M., Rehman, K., Khan, Y. H., Alanazi, A. S., Alotaibi, N. H., Akash, M. S. H., & Butt, M. H. (2023). Biochemical Association of MTHFR C677T

Polymorphism with Myocardial Infarction in the Presence of Diabetes Mellitus as a Risk Factor. *Metabolites*, 13(2), 251. <https://doi.org/10.3390/metabo13020251>

69. Manivel, R. (2021). Folatos: Metabolismo y defectos del tubo neural. *Revista de Educación Bioquímica (REB)* 40(2):41-47. *NEUROTÓXICO. REB* 28(1): 3-8.

70. Massadeh, S., Umair, M., Alaamery, M., & Alfadhel, M. (2019). A novel homozygous nonsense mutation in the catalytic domain of MTHFR causes severe 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency. *Frontiers in Neurology*, 10, 411. <https://doi.org/10.3389/fneur.2019.00411>

71. Mengel-From J, Thinggaard M, Dalgård C, Kyvik KO, Christensen K, Christiansen L. Mitochondrial DNA copy number in peripheral blood cells declines with age and is associated with general health among elderly. *Hum Genet*. 2014 Sep;133(9):1149-59. doi: 10.1007/s00439-014-1458-9. Epub 2014 Jun 6. PMID: 24902542; PMCID: PMC4127366.

72. Mengel-From, J., Thinggaard, M., Dalgård, C. et al. El número de copias de ADN mitocondrial en células sanguíneas periféricas disminuye con la edad y se asocia con la salud general en personas mayores. *Hum Genet* 133 , 1149–1159 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00439-014-1458-9>

73. Montpetit, A., Alhareeri, A., Montpetit, M., Starkweather, A., Elmore, L., Filler, K., Mohanraj, L., Burton, C., Menzies, V., Lyon, D., Jackson-Cook, C. (2014). TelomereLength. A Review of Methods for Measurement. *Nursing Research*, Vol63, No4, 289–299.

74. Moores, C. J., Fenech, M., & O'Callaghan, N. J. (2011). Telomere dynamics: the influence of folate and DNA methylation. *Annals Of The New York Academy Of Sciences*, 1229(1), 76-88. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06101.x>

75. Moqri, M., Herzog, C., Poganik, J., Justice, J., Belsky, D., Higgins-Chen, D., Moskalev, A., Fuellen, G., Cohen, A., Bautmans, I., Widschwendter, M., Ding, J., Fleming, A., Mannick, J., Jing-Dong, J., Zhavoronkov, A., Barzilai, R., Kaeberlein, M., Cummings, S., Kennedy, B., Ferrucci, L., Horvath, S., Verdin, E., Maier, A., Snyder, M., Sebastiani, M., Vadim N. Gladyshev. (2023). Biomarkers of aging for the identification and evaluation of longevity interventions, *Cell*, Volume 186, Issue 18, Pages 3758-3775, ISSN 0092-8674, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.08.003>.

76. Morales de Machín, Alisandra, Méndez, Karile, Solís, Ernesto, Borjas de Fajardo, Lisbeth, Bracho, Ana, Hernández, María Luisa, Negrón, Aimara, Delgado, Wilmer, Sánchez, Yanira. (2015). C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in mothers of children affected by neural tube defects. *Clinical Research*, 56(3), 284-295. Retrieved September 18, 2025, from http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-513320150003000006&lng=es&tlng=es.

Müezzínler A, Zaineddin AK, Brenner H. A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Res Rev.* 2013 Mar;12(2):509-19. doi: 10.1016/j.arr.2013.01.003. Epub 2013 Jan 16. PMID: 23333817.

77. Nawrot, T. S., Staessen, J. A., Gardner, J. P., & Aviv, A. (2010). A systematic review of leukocyte telomere length and age in adults. *Ageing Research Reviews*, 9(4), 317–329. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2010.04.001>

78. Nilsson, T. K., Böttiger, A. K., Henríquez, P., & Majem, L. S. (2014). MTHFR polymorphisms and serum cobalamin affect plasma homocysteine concentrations differentially in females and males. *Molecular Medicine Reports*, 10(5), 2706-2712. <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2521>

79. Oh, B. K., Um, T. H., Choi, G. H., and Park, Y. N. (2018). Frequent changes in subtelomeric DNA methylation patterns and its relevance to telomere regulation during human hepatocarcinogenesis. *Int. J. Cáncer* 128, 857–868. doi: 10.1002/ijc.25398.

80. Olivieri F, Rippo MR, Monsurrò V, Salvioli S, Capri M, Procopio AD, Franceschi C. MicroRNAs linking inflamm-aging, cellular senescence and cancer. *Ageing Res Rev.* 2013 Sep;12(4):1056-68. doi: 10.1016/j.arr.2013.05.001. Epub 2013 May 17. PMID: 23688930.

81. Olovnikov AM. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol.* 1973 Sep 14;41(1):181-90. doi: 10.1016/0022-5193(73)90198-7. PMID: 4754905

82. OPS. (2021-2030). Década del envejecimiento saludable en las Américas. Organización Panamericana de la Salud. <https://www.paho.org/es/decada-envejecimiento-saludable-americas-2021-2030>

83. Organización Mundial de la Salud. (2024, 11 de diciembre). Health at a glance: Mexico. Organización Mundial de la Salud. https://srhdpeuwpubsa.blob.core.windows.net/whdh/DATADOT/COUNTRY/PDF/484_Mexico.pdf

84. Organización Mundial de la Salud: Envejecimiento y Salud. [(Consultado el 14 de Julio del 2025)]. Disponible en línea: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>

85. Ostrakhovitch, E., & Tabibzadeh, S. (2018). Homocysteine and age-associated disorders. *Ageing Research Reviews*, 49, 144-164. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2018.10.010>

86. Passos JF, Saretzki G, Ahmed S, Nelson G, Richter T, Peters H, Wappler I, Birket MJ, Harold G, Schaeuble K, Birch-Machin MA, Kirkwood TB, von Zglinicki T. Mitochondrial dysfunction accounts for the stochastic heterogeneity in telomere-

dependent senescence. PLoS Biol. 2007 May;5(5):e110. doi: 10.1371/journal.pbio.0050110. PMID: 17472436; PMCID: PMC1858712.

87. Paul L, Cattaneo M, D'Angelo A, Sampietro F, Fermo I, Razzari C, Fontana G, Eugene N, Jacques PF, Selhub J. Telomere length in peripheral blood mononuclear cells is associated with folate status in men. J Nutr. 2009 Jul;139(7):1273-8. doi: 10.3945/jn.109.104984. Epub 2009 May 20. PMID: 19458030.

88. Pejchal R, Campbell E, Guenther BD, Lennon BW, Matthews RG, Ludwig ML. Structural perturbations in the Ala --> Val polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase: how binding of folates may protect against inactivation. Biochemistry. 2006 Apr 18;45(15):4808-18. doi: 10.1021/bi052294c. PMID: 16605249; PMCID: PMC1868400.

89. Ravaei, A., Pulsatelli, L., Assirelli, E., Ciaffi, J., Meliconi, R., Salvarani, C., Govoni, M., & Rubini, M. (2023). MTHFR c.665C>T and c.1298A>C Polymorphisms in Tailoring Personalized Anti-TNF- α Therapy for Rheumatoid Arthritis. International Journal of Molecular Sciences, 24(4), 4110. <https://doi.org/10.3390/ijms24044110>

90. Rosenblatt DS (1995) Inherited disorders of folate transport and metabolism. In The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 7th ed. CR Scriver, AL Beaudet, S Sly, D Valle, eds., (New York: McGrawHill), pp 3111–3128

91. Sánchez, M., Jiménez, S., & Morgado, J. (2008). LA HOMOCISTEÍNA: UN AMINOÁCIDO NEUROTÓXICO. REB 28(1): 3-8, 2009

92. Saretzki, G., & Von Zglinicki, T. (2002). Replicative Aging, Telomeres, and Oxidative Stress. Annals Of The New York Academy Of Sciences, 959(1), 24-29. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2002.tb02079.x>

93. Shamas MA. Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. Curr Opin Clin Nutr Metab Care. 2011 Jan;14(1):28-34. doi: 10.1097/MCO.0b013e32834121b1. PMID: 21102320; PMCID: PMC3370421.

94. Shipton MJ, Thachil J. Vitamin B12 deficiency - A 21st century perspective . Clin Med (Lond). 2015 Apr;15(2):145-50. doi: 10.7861/clinmedicine.15-2-145. PMID: 25824066; PMCID: PMC4953733.

95. Shulpekova Y, Nechaev V, Kardasheva S, Sedova A, Kurbatova A, Bueverova E, Kopylov A, Malsagova K, Dlamini JC, Ivashkin V. The Concept of Folic Acid in Health and Disease. Molecules. 2021 Jun 18;26(12):3731. doi: 10.3390/molecules26123731. PMID: 34207319; PMCID: PMC8235569.

96. Sierra, F., Kohanski, R. Geroscience and the trans-NIH Geroscience Interest Group, GSIG. GeroScience 39, 1–5 . <https://doi.org/10.1007/s11357-016-9954-6>.

97. Smith, A. D., & Refsum, H. (2021). Homocysteine, B Vitamins, and Cognitive Impairment. Annual Review of Nutrition, 41, 211–239.

98. Soberón, M., Charaja., Agüero, Y., Oriondo, R., Sandoval, M., & Núñez, M. 2004. Estudio de los niveles plasmáticos de homocisteína, ácido fólico y vitamina B12 en una población limeña de jóvenes adultos. *An. Fav. Med.* V. 65. N.2
99. Steinert, S., Shay, J & Wright, W. (2004). Modification of subtelomeric DNA. *Mol. Cell. Biol.* 24, 4571-4580. doi: 10.1128/MCB.24.10.4571-4580.2004.
100. Thermo Fisher Scientific.(2025). Patrón de tamaño GeneScan™ 600 con colorante Liz™ v2.0 (No.4408399). <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4408399>
101. Thermo Fisher Scientific.(2025). TaqMan Genotyping Master Mix (No.4371355).<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4371355>
102. Thermo Fisher Scientific.(2025).Rox Reference Dye (No.12223012).<https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/12223012?SID=src-h-srp-12223012>
103. Thongon N, Ma F, Santoni A, Marchesini M, Fiorini E, Rose A, Adema V, Ganan-Gomez I, Groarke EM, Gutierrez-Rodrigues F, Chen S, Lockyer P, Schneider S, Bueso-Ramos C, Montalban-Bravo G, Class CA, Soltysiak KA, Pellegrini M, Sahin E, Bertuch AA, DiNardo CD, Garcia-Manero G, Young NS, Dwyer K, Colla S. Hematopoiesis under telomere attrition at the single-cell resolution. *Nat Commun.* 2021 Nov 25;12(1):6850. doi: 10.1038/s41467-021-27206-7. PMID: 34824242; PMCID: PMC8617077.
104. University of Arizona. (1996). The Biology Project – DNA Forensics Problem Set 1: VNTR: hypervariable regions [Página web]. Recuperado de <https://www3.med.unipmn.it/did/will/BiologyProject/05t-10.html>
105. Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet.* 2021 Jan 21;11:630186. doi: 10.3389/fgene.2020.630186. PMID: 33552142; PMCID: PMC7859450.
106. Van der Put NM, Gabreëls F, Stevens EM, Smeitink JA, Trijbels FJ, Eskes TK, van den Heuvel LP, Blom HJ. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural-tube defects? *Am J Hum Genet.* 1998 May;62(5):1044-51. doi: 10.1086/301825. PMID: 9545395; PMCID: PMC1377082.
107. Vandenberk, B., Brouwers, B., Hatse, S., & Wildiers, H. (2011). p16INK4a: A central player in cellular senescence and a promising aging biomarker in elderly cancer patients. *Journal Of Geriatric Oncology*, 2(4), 259-269. <https://doi.org/10.1016/j.jgo.2011.08.004>
108. Wagner, K., Cameron-Smith, D., Wessner, B., & Franzke, B. (2016). Biomarkers of Aging: From Function to Molecular Biology. *Nutrients*, 8(6), 338. <https://doi.org/10.3390/nu8060338>

109. Wang J, Ouyang N, Qu L, Lin T, Zhang X, Yu Y, Jiang C, Xie L, Wang L, Wang Z, Ren S, Chen S, Huang J, Liu F, Huang W, Qin X. Effect of MTHFR A1298C and MTRR A66G Genetic Mutations on Homocysteine Levels in the Chinese Population: A Systematic Review and Meta-analysis. *J Transl Int Med.* 2017 Dec 29;5(4):220-229. doi: 10.1515/jtim-2017-0037. PMID: 29340279; PMCID: PMC5767712.
110. Wang, L., Soria, J. C., Chang, Y. S., Lee, H. Y., Wei, Q., & Mao, L. (2003). Association of a functional tandem repeats in the downstream of human telomerase gene and lung cancer. *Oncogene*, 22(46), 7123-7129.
111. Wang, L., Wei, Q., Wang, L. E., Aldape, K. D., Cao, Y., Okcu, M. F., ... & Bondy, M. L. (2006). Survival prediction in patients with glioblastoma multiforme by human telomerase genetic variation. *Journal of clinical oncology*, 24(10), 1627-1632.
112. Wiik, M.U., Negline, M., Beisvåg, V. et al. MTHFR C677T and A1298C polymorphism's effect on risk of colorectal cancer in Lynch syndrome. *Sci Rep* 13, 18783 (2023). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-44120-8>
113. World Health Organization. (2002). Active ageing: A policy framework. WHO. <https://www.who.int>
114. Wysoczanska, B., et al. (2019). Variability within the human TERT gene, telomere length and predisposition to disease. *OncoTargets and Therapy*, 12, 4371–4382.
115. Xia X, Chen W, McDermott J, Han JJ. Molecular and phenotypic biomarkers of aging. *F1000Res.* 2017 Jun 9;6:860. doi: 10.12688/f1000research.10692.1. PMID: 28663789; PMCID: PMC5473407.
116. Xia X, Rui R, Quan S, Zhong R, Zou L, Lou J, et al. (2013) MNS16A tandem repeats, a microsatellite in the human telomerase gene, and cancer risk: a meta-analysis. *PLoS ONE* 8(8): e73367. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073367>
117. Xia, L.Z.; Liu, Y.; Xu, X.Z.; Jiang, P.C.; Ma, G.; Bu, X.F.; Zhang, Y.; Yu, F.; Xu, K.-S.; Li, H. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer susceptibility. *World J. Gastroenterol.* 2014, 20, 11429–11438.
118. Xu J, Khincha PP, Giri N, Alter BP, Savage SA, Wong JM. Investigation of chromosome X inactivation and clinical phenotypes in female carriers of DKC1 mutations. *Am J Hematol.* 2016 Dec;91(12):1215-1220. doi: 10.1002/ajh.24545.
119. Xu K, Guo Y, Li Z, Wang Z.(2019). Aging Biomarkers and Novel Targets for Anti-Aging Interventions. *Adv Exp Med.*
120. Xu, R., Huang, F., Wang, Y. et al. Gender- and age-related differences in homocysteine concentration: a cross-sectional study of the general population of China. *Sci Rep* 10, 17401 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74596-7>

121. Yamada K, Chen Z, Rozen R, Matthews RG. Effects of common polymorphisms on the properties of recombinant human methylenetetrahydrofolate reductase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Dec 18;98(26):14853-8. doi: 10.1073/pnas.261469998. Epub 2001 Dec 11. PMID: 11742092; PMCID: PMC64948.
122. Ye, Q., Apsley, A. T., Etzel, L., Hastings, W. J., Wolf, S. E., & Shalev, I. (2023). Telomere length and chronological age across the human lifespan: A systematic review and meta-analysis of 414 study samples including 743,019 individuals. *Ageing Research Reviews*, 90, 102031. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.102031>
123. Zhong Z, Shiue L, Kaplan S, de Lange T. A mammalian factor that binds telomeric TTAGGG repeats in vitro. *Mol Cell Biol*. 1992 Nov;12(11):4834-43. doi: 10.1128/mcb.12.11.4834-4843.1992. PMID: 1406665; PMCID: PMC360416.
124. Zhong, T., Song, X., Liu, Y., Sun, M., Zhang, S., Chen, L., Diao, J., Li, J., Li, Y., Shu, J., Wei, J., Zhu, P., Wang, T., & Qin, J. (2022). Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and maternal folic acid use with the risk of congenital heart disease. *Frontiers In Pediatrics*, 10, 939119. <https://doi.org/10.3389/fped.2022.939119>

ANEXOS

Wizard Genomic DNA Purification Kit

Solución de Lisis Celular	3 L
Solución de Lisis Nuclear	1 L
Solución de precipitación de proteínas	350 mL
Solución de rehidratación de ADN	150 mL

A1 Contenido del Kit Wizard Genomic DNA Purification

Reactivos	[] Inicial	[] en la reacción	Por reacción
MiliQ-H ₂ O	-	-	4.78
Hot Start Taq MMx	2x	1x	7.5
MNS16A_VNTR_FAM_F	10 uM	240 nM	0.36
MNS16A_VNTR_R	10 uM	240 nM	0.36
gDNA	30 ng/uL	3.6 ng/uL	2
Total			15

A2Concentración y volumen final de los componentes utilizados en una reacción de PCR. Para múltiples muestras, se recomienda multiplicar los volúmenes por el número total de reacciones y añadir un 10% extra como reserva.



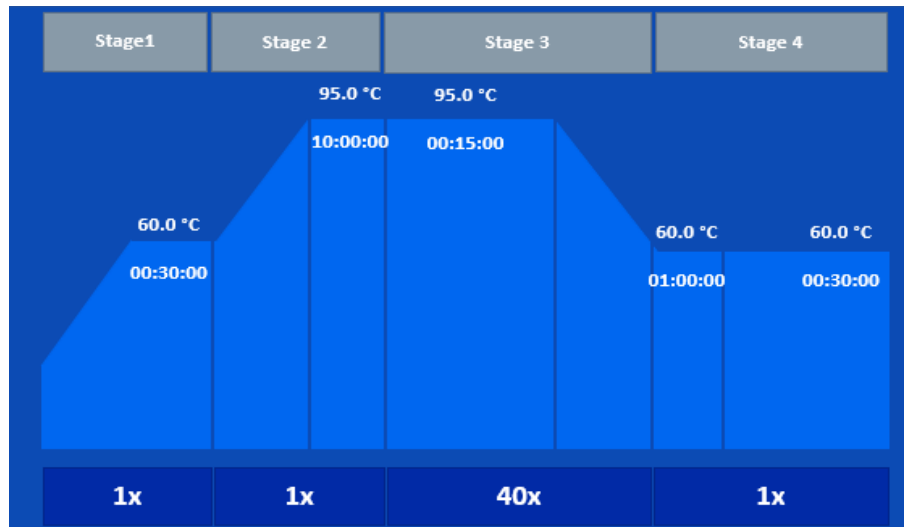
A3 Condiciones de temperatura utilizadas para la PCR de genotipificación del VNTR MNS16A.

Reactivos	Por reacción
Formamida HiDi	13.7 µL
Marcador GS-LIZ-600	0.3 µL
Amplificado diluido 1:100	1 µL
Total	15 µL

A4 Concentración y volumen final de la mezcla para cada reacción de separación por electroforesis capilar, por muestra.

677 C>T (rs1801133)	Por reacción
TaqMan Genotyping Master Mix (GMMx)(2X)(lote: 1211076)	5 µL
rs1801133 TaqMan genotyping assay mix (20X)	0.5 µL
ROX 1 uM, en TE 0.1	0.5 µL
DNA, 10 ng/uL en MiliQ-H2O	4
Total	10

A5 Concentración y volumen final de la mezcla para la reacción de PCR correspondiente a la variante C677T del gen MTHFR.



A6 Condiciones de temperatura para la PCR de genotipificación correspondiente a la variante C677T del gen MTHFR.

1298 A>C (rs1801131)

Por reacción

TaqMan Genotyping Master Mix
(GMMx)(2X)(lote: 1211076)

5 µL

rs1801131 TaqMan genotyping assay mix
(20X)

0.5 µL

ROX 1 uM, en TE 0.1

0.5 µL

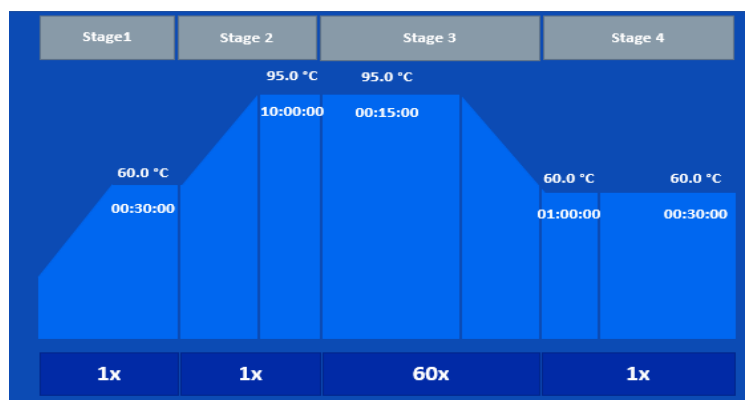
DNA, 10 ng/uL en MiliQ-H2O

4

Total

10

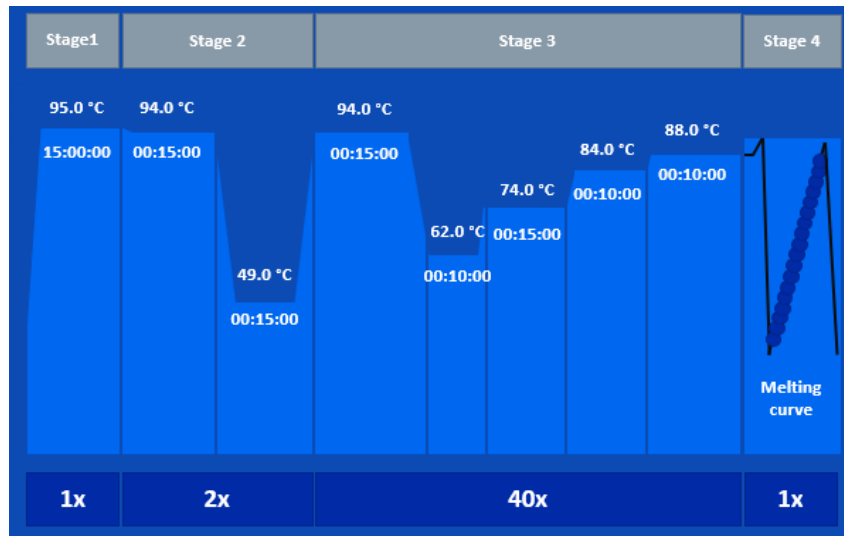
A7 Concentración y volumen final de la mezcla para la reacción de PCR correspondiente a la variante A1298C del gen MTHFR.



A8 Condiciones de temperatura para la PCR de genotipificación correspondiente a la variante A1298C del gen MTHFR.

Reactivos	Por reacción	Por disco (100 reacciones) + 12%
2x QuantiNova SYBR Green PCR Master Mix	5	560
dNTP	0.2 µL	22.4 µL
Telg primer	0.35 µL	39.2 µL
Telc primer	0.35 µL	39.2 µL
HB Bu primer	0.2 µL	22.4 µL
HB Bd primer	0.2 µL	22.4 µL
ADN diluido	3.7 µL	11.9 µL (Por triplicado)
Total	10 µL	705.6 µL

A9 Concentración y volumen final de la mezcla para la reacción de PCR utilizada en el cálculo de las proporciones de señales teloméricas.



A10 Condiciones de temperatura empleadas en la PCR para el cálculo de las proporciones de señales teloméricas. Está ajustada para optimizar la amplificación de los fragmentos teloméricos.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00267

Matrícula: 2233804050

Caracterización y análisis de biomarcadores moleculares: Longitud de telómeros y genes asociados a la telomerasa en el envejecimiento saludable en adultos mayores.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 10:00 horas del día 4 del mes de diciembre del año 2025 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. EDUARDO CASAS HERNANDEZ
DR. JULIO CESAR ALMANZA PEREZ
DR. FERNANDO RIVERA CABRERA
DRA. GUADALUPE ELIZABETH JIMENEZ GUTIERREZ

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la ultima, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

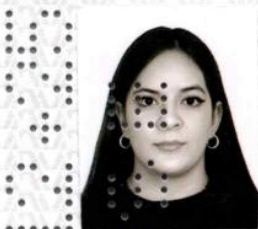
MAESTRA EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

DE: MARIA FERNANDA RESENDESS TURRUBIATES

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



MARIA FERNANDA RESENDESS
TURRUBIATES
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALBA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTE

DR. EDUARDO CASAS HERNANDEZ

VOCAL

DR. JULIO CESAR ALMANZA PEREZ

VOCAL

DR. FERNANDO RIVERA CABRERA

SECRETARIA

DRA. GUADALUPE ELIZABETH JIMENEZ
GUTIERREZ