



ORIGINAL

Identificación de polimorfismos de nucleótido simple en centenarios



Juan Gambini^a, Lucía Gimeno-Mallench^a, Marta Inglés^b, Gloria Olaso^a, Kheira Mohamed Abdelaziz^a, Juan Antonio Avellana^c, Ángel Belenguer^c, Raquel Cruz^d, Cristina Mas-Bargues^a, Consuelo Borrás^a y José Viña^{a,*}

^a Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universitat de València/INCLIVA, Valencia, España

^b Departamento de Fisioterapia, Facultad de Fisioterapia, Universitat de València, Valencia, España

^c Servicio de Geriatria, Hospital de la Ribera, Alzira, Valencia, España

^d CIBERER - Grupo de Medicina Xenómica, Universidad de Santiago de Compostela, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 30 de marzo de 2015

Aceptado el 9 de septiembre de 2015

On-line el 2 de noviembre de 2015

Palabras clave:

Centenarios

Longevidad

Longevidad extrema

Envejecimiento

RESUMEN

Introducción: La longevidad viene determinada por la genética propia de cada especie y por factores externos, tales como nutricionales, ambientales, sociales, etc. Sin embargo, los individuos más longevos se caracterizan por presentar una mayor adaptación al entorno condicionada predominantemente por su propia genética. Dentro de una misma población con relativa homogeneidad genotípica, podemos encontrar cambios sutiles en la secuencia de ADN que afectan únicamente a un nucleótido. Estos cambios denominados polimorfismos de nucleótido simple (*Single Nucleotide Polimorphism* [SNP]) se encuentran con una prevalencia mayor al 1-5% de la población. Por ello, nos planteamos estudiar en individuos centenarios si las posibles variaciones genéticas, analizando SNP, podrían tener alguna relevancia en la longevidad extrema que experimentan.

Material y métodos: Se reclutó a 92 sujetos: 28 centenarios y 64 controles. Se les extrajo sangre, se aisló y amplificó ADN para el análisis de SNP mediante la tecnología *Axiom™ Genotyping* de Affymetrix. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa Plink y varias bibliotecas de R para Windows (library SNPassoc, skatMeta).

Resultados: Los resultados del análisis muestran 12 SNP que presentan un valor de *p* inferior a 0,001, donde 5 de ellos (DACH1, LOC91948, BTB16, NFIL3 y HDAC4) tienen funciones reguladoras de la expresión de otros genes.

Conclusiones: Así pues, los resultados sugieren que las variaciones genéticas observadas entre centenarios y controles tienen lugar en 5 genes que están implicados en la regulación de la expresión génica, capacitándolos a adaptarse a diferentes condiciones ambientales con mejor éxito.

© 2015 SEGG. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Identification of single nucleotide polymorphisms in centenarians

ABSTRACT

Introduction: Longevity is determined by genetic and external factors, such as nutritional, environmental, social, etc. Nevertheless, when living conditions are optimal, longevity is determined by genetic variations between individuals. In a same population, with relative genotypic homogeneity, subtle changes in the DNA sequence affecting a single nucleotide can be observed. These changes, called single nucleotide polymorphisms (SNP) are present in 1-5% of the population.

Material and methods: A total of 92 subjects were recruited, including 28 centenarians and 64 controls, in order to find SNP that maybe implicated in the extreme longevity, as in the centenarians. Blood samples were collected to isolate and amplify the DNA in order to perform the analysis of SPN by *Axiom™ Genotyping* of Affymetrix technology. Statistical analyses were performed using the Plink program and libraries SNPassoc and skatMeta.

Results: Our results show 12 mutations with a *p*<.001, where 5 of these (DACH1, LOC91948, BTB16, NFIL3 y HDAC4) have regulatory functions of the expressions of others genes.

Keywords:

Centenarian

Longevity

Extreme longevity

Ageing

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: jose.vina@uv.es (J. Viña).

Conclusions: Therefore, these results suggest that the genetic variation between centenarians and controls occurs in five genes that are involved in the regulation of gene expression to adapt to environmental changes better than controls.

© 2015 SEGG. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La longevidad de los seres vivos viene determinada por la genética propia de cada especie y por factores externos a ellos, tales como los nutricionales, ambientales, sociales, etc. Sin embargo, dentro de una misma especie, se pueden observar diferencias de longevidad entre individuos. De hecho, cuando las condiciones de vida son óptimas, la supervivencia está únicamente condicionada por las variaciones genéticas entre individuos¹. Además, dicha supervivencia se basa en el control homeostático que presentan los seres vivos, lo cual los capacita a adaptarse a diferentes condiciones ambientales, ya sean tanto en el medio interno como externo. Por tanto, el estudio de la secuencia genética, así como su control y regulación, constituyen unas herramientas clave para el entendimiento de la capacidad de adaptación al entorno de los seres vivos, de su longevidad y sobre todo en la longevidad extrema².

Un ejemplo claro de este envejecimiento excepcional en el ser humano son los centenarios. Estos individuos, aproximadamente uno de cada 5.000³, han alcanzado una edad superior a la media de la población, debido a sus características genéticas. Por ello, en los últimos años, han sido considerados un modelo clave para el estudio del envejecimiento y longevidad en humanos.

Recientemente, un estudio, en el cual se ha analizado la expresión de micro-RNA (como control genético) en individuos de diferentes grupos de edad, ha mostrado cómo los centenarios poseen un patrón característico propio, muy similar al de los jóvenes y diferente al de los octogenarios. De forma similar, cuando se compara la expresión génica mediante el estudio de mRNA, los resultados muestran un patrón también característico propio en individuos centenarios, que es muy parecido a los jóvenes y no a octogenarios⁴.

Tanto la expresión génica (mRNA) como su regulación (micro-RNA) están codificadas en la secuencia de ADN. Esta secuencia no es exactamente igual entre razas ni entre individuos de una misma población, encontrándose cambios que afectan al fenotipo de las especies, como los que se describen entre razas, cambios por mutaciones, recombinaciones de genes, etc⁵. Dentro de una misma población con una relativa homogeneidad genotípica podemos encontrar, además, cambios sutiles en la secuencia de ADN que afectan únicamente a un nucleótido. Estos cambios denominados polimorfismos de nucleótido simple (del inglés *Single Nucleotide Polymorphism* [SNP]), se encuentran con una prevalencia mayor del 1-5% de la población, según autores, y pueden o no traducirse en una alteración en la proteína codificada o en la regulación de la expresión génica⁶⁻⁸.

Por tanto, dada la existencia de patrones de expresión y regulación génica característicos de centenarios, nos planteamos estudiar si la presencia de variaciones en SNP, podría marcar un patrón de extrema longevidad en individuos centenarios en una población concreta. De esta manera, se podría ayudar a la identificación de aquellos factores genéticos que contribuyen al envejecimiento excepcional que presentan los individuos centenarios.

Material y métodos

Muestra

Se reclutaron un total de 92 sujetos: 28 centenarios (≥ 100 años) (22 mujeres y 6 hombres) y 64 controles (20-80 años) (41 mujeres

y 23 hombres) pertenecientes al departamento de salud número 11 de la Comunidad Valenciana, España.

El estudio fue sometido a los principios de bioética recogidos en la declaración de Helsinki y a la legislación española pertinente. Además, todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigación Clínica del Hospital Universitario de la Ribera (Alzira), desde donde se llevó a cabo el reclutamiento. Todos los pacientes y sus familiares fueron plenamente informados de los objetivos y el alcance de la investigación y firmaron un consentimiento informado.

Las muestras de sangre total fueron extraídas en ayunas por personal autorizado en el Hospital Universitario de la Ribera o en el propio domicilio del sujeto. Se emplearon tubos Vacutainer con EDTA como anticoagulante. Una vez alicuotadas en tubos tipo eppendorf, se congelaron a -80°C . Posteriormente, uno de estos crioviales se envió al Centro Nacional de Genotipado-Instituto Carlos III de Santiago de Compostela, para la extracción de ADN y genotipado de la muestra.

Genotipado de las muestras

El ADN fue extraído mediante el *Chemagic DNA blood kit*, siguiendo las indicaciones del fabricante. Para el análisis de genotipado se utilizó la tecnología *Axiom™ Genotyping* de Affymetrix. Para ello, el ADN total se amplificó y fragmentó hasta 25-125 pares de bases. Estos fragmentos se purificaron y resuspendieron con la solución de hibridación que se transfirió posteriormente al *GeneTitan Instrument* de Affymetrix, para seguir su procesamiento completamente automatizado (hibridación en las placas de 96 pocillos, ligado, lavado, tinción, estabilización y escaneado). Las imágenes se procesaron automáticamente para obtener los genotipos con el algoritmo *Axiom GT1*, disponible a través del programa *Genotyping Console* (GTC) de Affymetrix.

Una vez obtenidas las imágenes de cada muestra en archivos, se descartaron aquellas que no sobrepasaron los siguientes controles de calidad: filtro por *dishQC* (se eliminaron las muestras con valor inferior a 0,82) y filtro por *call rate* (se eliminaron las muestras con valor inferior a 97%). Finalmente se genotiparon 295.988 marcadores.

Análisis estadístico

Previo al análisis estadístico, los datos genéticos fueron sometidos a un procedimiento de control de calidad estándar de los estudios de asociación, en función de la desviación del equilibrio Hardy Weinberg y la tasa de genotipado. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa *Plink* y varias bibliotecas de R para Windows (*library SNPpassoc*, *skatMeta*).

En el análisis individual de los SNP, las diferencias en frecuencia de genotipos entre casos y controles para cada una de las variantes fueron evaluadas mediante regresión logística, empleando el programa *Plink*. La variable género fue incluida como covariable en el modelo de regresión. El análisis fue realizado asumiendo el modelo genético dominante. En dicho modelo, los genotipos son codificados como 0, 1 o 2 en función del número de copias del alelo menos frecuente.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/938349>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/938349>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)