

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

CRELES-LTL

Costa Rica. Estudio de Longevidad y Envejecimiento Saludable,
todas las cohortes

Longitud de telómeros leucocitarios (LTL)

Luis Rosero-Bixby

William H. Dow

David Rehkopf

Jue Lin

Cobertura: Costa Rica, todas las cohortes de CRELES (submuestra)

Financiamiento: National Institute on Aging de los Estados Unidos (grant R01AG031716)

Citación sugerida:

Rosero-Bixby, L; Dow, W. H.; Rehkopf, D. y Lin, J. (2016). CRELES: Costa Rica. Estudio de Longevidad y Envejecimiento Saludable, todas las cohortes. Longitud de telómeros leucocitarios (LTL). San José, Costa Rica. Centro Centroamericano de Población (CCP), Universidad de Costa Rica. Documento electrónico. Sitio Web de CRELES:
<https://ccp.ucr.ac.cr/creles/>

Este archivo de datos contiene los resultados de laboratorio de la medición de la longitud de los telómeros en células sanguíneas de los participantes de CRELES. La medición se realizó en una submuestra de las rondas 1 y 2 de la cohorte CRELES Pre-1945, así como en todos los participantes principales de la ronda 1 de la cohorte de retiro cuyo ADN almacenado tenía niveles de concentración adecuados. El archivo incluye además la información de LTL de una muestra complementaria de 91 casi centenarios de la región de Nicoya, a quienes se aplicaron todos los protocolos de la cohorte CRELES Pre-1945.

Las variables IDSUJETO y WAVE deben usarse para vincular esta información con los archivos de datos de CRELES.

La variable SUBSAFRA contiene la fracción de la muestra de CRELES en la que se midió la LTL. El producto del inverso de SUBSAFRA por los factores de ponderación muestrales originales da una estimación de nuevos factores de ponderación para la submuestra de telómeros. Las variables TS, TSNORMAL y BP son medidas de la LTL, como se explica más adelante.

La submuestra de LTL de la cohorte CRELES Pre-1945, junto con la muestra complementaria de casi centenarios de Nicoya, incluye N=1.261 participantes, 968 de los cuales tienen dos observaciones separadas por cerca de dos años y, por lo tanto, son aptas para análisis longitudinales. El número de observaciones de telómeros en esta cohorte es, entonces, 2.229. La submuestra incluyó a todos los participantes de CRELES de la región de alta longevidad de Nicoya (N=333, de los cuales 226 tienen dos observaciones) y a una submuestra aleatoria, estratificada por edad, del 38% de los participantes de CRELES de las demás regiones.

En la cohorte CRELES RC, la LTL se midió en todas las muestras de ADN disponibles de los participantes principales, N=2.369, es decir, el 85% de todos los participantes principales.

Las muestras de sangre de CRELES se obtuvieron por venopunción en los hogares de los participantes, a cargo de flebotomistas certificados. El plasma y la fracción celular se separaron por centrifugación en las 2 a 4 horas siguientes a la toma y se almacenaron en viales de 2 ml a -40 °C.

Extracción de ADN y medición de la LTL

Técnicos de laboratorio de la Universidad de Costa Rica extrajeron el ADN de la fracción celular según el método de Hermann y Frischauf¹. En resumen, el primer paso es la lisis celular y la digestión con proteinasa K; luego, una extracción con fenol-cloroformo (fenol tamponado con tris / fenol tamponado con tris, cloroformo: alcohol isoamílico 24:17 / precipitación con acetato de sodio-isopropanol / lavado del sedimento con etanol al 70%), y disolución en tampón TE. La razón de absorción A260/A280 fue de 1,72 en promedio (0,64 d.e.). Las muestras de ADN extraído, con una concentración media de 106 ng/ul (50 d.e.), se almacenaron a 4 °C durante períodos de 0 a 9 años hasta la medición de la LTL

¹ Hermann BG, Frischauf AM. Isolation of genomic DNA. Methods in Enzymology. 1987;152:180-3.

(12% menos de 1 año, 44% 2-3 años, 7% 4-5 años, 29% 6-7 años y 8% 8-9 años). En 2015 se realizó un análisis en gel de agarosa al 0,8% para evaluar la integridad del ADN usado para medir la longitud de los telómeros, en una selección sistemática de 111 muestras de ADN estratificada por años de almacenamiento del ADN y por lote de medición de la LTL. Este análisis concluyó que no había degradación aparente del ADN.

El laboratorio Blackburn de la Universidad de California, San Francisco, realizó la medición de la LTL mediante reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa (Q-PCR) para determinar la razón relativa entre telómero y un gen de copia única (razón T/S), en este caso la beta-globina humana. Cada muestra de ADN se midió tres veces y los valores T y S se promediaron para obtener la razón T/S. El coeficiente de variación promedio entre mediciones fue de 0,037 (0,033 d.e.). Por limitaciones de presupuesto, las mediciones de LTL se hicieron en dos lotes: el primero en 2010 y el segundo en 2014. Los resultados de ambos lotes se validaron con 29 muestras de ADN seleccionadas al azar del primer lote, que se volvieron a medir en el segundo. El coeficiente de correlación entre las dos medidas de LTL en esta submuestra fue satisfactorio: 0,94. Sin embargo, la comparación mostró un sesgo: las razones T/S medidas de nuevo en 2014 fueron en promedio 0,07 más largas que las razones T/S originales de 2010. El intervalo de confianza del 95% de esta diferencia media fue de 0,05 a 0,09.

El análisis estadístico con técnicas de datos de panel sobre las 2.229 observaciones de la cohorte Pre-1945 mostró que la LTL estaba asociada significativamente con los tiempos de almacenamiento y con el lote de medición². Para que el indicador de LTL sea comparable entre todas las observaciones (lo cual es especialmente importante en análisis longitudinales), se identificaron las siguientes ecuaciones de corrección³:

Medición de LTL de 2014:

$$\text{Adj_T/S} = \text{Obs_T/S} - (.069 \text{ DNAYrs} - .0067 \text{ DNAYrs}^2) + .04 \text{ oldblood}$$

Medición de LTL de 2010:

$$\text{Adj_T/S} = \text{Obs_T/S} - (.043 \text{ DNAYrs} - .0067 \text{ DNAYrs}^2) + .04 \text{ oldblood} + .051$$

Cohorte RC (medición de 2014):

$$\text{Adj_T/S} = \text{Obs_T/S} - .305$$

Donde:

- Adj_T/S y Obs_T/S son las razones T/S ajustada y observada

² Rosero-Bixby L, Rehkopf DH, Dow WH, Lin J, Epel ES, Azofeifa J, et al. (2019) Correlates of longitudinal leukocyte telomere length in the Costa Rican Longevity Study of Healthy Aging (CRELES): On the importance of DNA collection and storage procedures. PLoS ONE 14(10): e0223766. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223766>.

³ Ibid: S2 Document.

- DNAyrs: tiempo (en años exactos) que el ADN estuvo almacenado antes de la medición de la LTL
- Oldblood: 1 si la sangre estuvo almacenada 12 meses o más antes de la extracción del ADN.

La razón T/S ajustada o normalizada es una estimación de la razón T/S esperada si el ADN se hubiera extraído de células sanguíneas almacenadas menos de 12 meses y la medición de la LTL se hubiera hecho inmediatamente después de la extracción del ADN (tiempo cero de almacenamiento del ADN), con los procedimientos de la medición de 2014. Las ecuaciones de corrección se obtuvieron de un análisis multivariado de regresión de panel que incluyó más de 30 indicadores de características demográficas, socioeconómicas, de salud y de la primera infancia de los participantes.

Si los análisis se hacen con las razones T/S originales, sin ajustar, se recomienda enfáticamente controlar los posibles efectos de confusión del tiempo de almacenamiento y del lote de medición, con la información correspondiente que trae el archivo de datos.

El archivo incluye también una variable que mide la LTL en pares de bases, que es una transformación simple de las razones T/S normalizadas con la ecuación⁴:

pares de bases = $3274 + 2413 * (T/S)$

⁴ Farzaneh-Far R, Lin J, Epel E, Lapham K, Blackburn E, Whooley MA. Telomere length trajectory and its determinants in persons with coronary artery disease: longitudinal findings from the heart and soul study. PLoS One 2010;5(1):e8612. doi: 10.1371/journal.pone.0008612.

Libro de códigos

Etiquetas de las variables en español:

Variable	Etiqueta
studychar	Cohorte o grupo del estudio (sin etiqueta)
cohort	Cohorte: 1 Pre 1945, 2 RC
idsujeto	Número de identificación del participante (sin etiqueta)
wave	Ronda (sin etiqueta)
subsafra	Fracción de la submuestra de TL (de la muestra de CRELES)
ts	Razón T/S media (reportada por el laboratorio)
ts_sd	Desviación estándar de T/S ajustada
tsnormal	T/S normalizada al lote de laboratorio de 2014, tiempo cero de almacenamiento del ADN y ADN de sangre fresca
bp	LTL en pares de bases
doi	Fecha de la entrevista (y de la toma de sangre)
age	Edad en la entrevista
male	Sexo masculino
nicoya	Reside en la región de Nicoya
lot	Año del lote de medición
modnaextra	Mes de extracción del ADN
yrdnaextra	Año de extracción del ADN
moltlmeasur	Mes de medición de la LTL
yrltlmeasur	Año de medición de la LTL
storeblood	Meses de almacenamiento de la sangre
storedna	Meses de almacenamiento del ADN

Salida del comando codebook de Stata (se conserva tal como la produce el programa):

```
-----
studychar
(unlabeled)
-----

              type:      string (str26)

unique values:      3                                missing "":      0/4,598

tabulation:         Freq.      Value
                    2,082      "Pre1945"
                     147      "Pre1945 quasi centenarians"
                    2,369      "RC"

warning:            variable has embedded blanks
-----
```

cohort
(unlabeled)

```
-----
              type:      numeric (byte)
              label:      cohort

              range:      [1,2]
unique values: 2                                units:      1
                                              missing .. 0/4,598

              tabulation:  Freq.      Numeric      Label
                           2,229        1        Pre 1945
                           2,369        2         RC
-----
```

idsujeto
(unlabeled)

```
-----
              type:      numeric (long)

              range:      [1,22230201]                                units:      1

unique values: 3,630                                missing .. 0/4,598

              mean:      6.4e+06
              std. dev:  7.5e+06

percentiles:      10%      25%      50%      75%      90%
                  1165      2205      2.1e+06      1.3e+07      1.9e+07
-----
```

wave
(unlabeled)

```
-----
              type:      numeric (byte)

              range:      [1,2]                                units:      1
unique values: 2                                missing .. 0/4,598

              tabulation:  Freq.      Value
                           3,599        1
                           999         2
-----
```

subsafra
fraction (of creles sample) TL subsample

```
-----
              type:      numeric (float)

              range:      [.08125,1]                                units:      1.000e-08
unique values: 13                                missing .. 0/4,598

              mean:      .708474
              std. dev:  .237385

percentiles:      10%      25%      50%      75%      90%
                  .354922      .412032      .85      .85      .963636
-----
```

ts Mean
T/S ratio (lab reported)

```
-----
              type:      numeric (double)

              range:      [.335,2.686]                                units:      1.000e-08
unique values: 2,060                                missing .. 0/4,598
-----
```

```

        mean:      1.06913
        std. dev:   .286014

        percentiles:      10%      25%      50%      75%      90%
                           .70591   .85148   1.05212   1.262    1.451
-----
ts_sd
T/S adjusted SD
-----

        type:      numeric (float)

        range:      [0,.285]          units:      .001
        unique values: 153              missing ..: 1,039/4,598

        mean:       .027711
        std. dev:    .025876

        percentiles:      10%      25%      50%      75%      90%
                           .007     .012     .021     .034     .057
-----
tsnormal      T/S normalized to lab lot 2014, zero-time DNA storage
and DNA from fresh blood
-----

        type:      numeric (float)

        range:      [.117,2.381]      units:      1.000e-08
        unique values: 2,934          missing ..: 0/4,598

        mean:       .891023
        std. dev:    .216089

        percentiles:      10%      25%      50%      75%      90%
                           .647     .741895 .863939 1.017    1.1708
-----
bp
Base Pairs LTL
-----

        type:      numeric (int)

        range:      [3556,9019]      units:      1
        unique values: 1,570          missing ..: 0/4,598

        mean:       5424.04
        std. dev:    521.428

        percentiles:      10%      25%      50%      75%      90%
                           4835     5064     5359     5728     6099
-----
doi      Date of
interview (and blood extraction)
-----

        type:      numeric daily date (int)

        range:      [16378,18974]      units:      1
        or equivalently: [03nov2004,13dec2011] units:      days
        unique values: 1,102          missing ..: 0/4,598

        mean:       17845.8 = 09nov2008 (+ 20 hours)
        std. dev:    854.634

        percentiles:      10%      25%      50%      75%      90%
                           16631    17079    18312    18640    18816
                           14jul2005 05oct2006 19feb2010 13jan2011 08jul2011

```

```

-----
age
Age at interview
-----

      type:    numeric (int)

      range:    [54,111]          units:    1
unique values:  56                missing .:  0/4,598

      mean:     69.2497
      std. dev:  12.9589

percentiles:      10%      25%   50%      75%      90%
                  56       59   64       78       89

```

```

-----
male
Gender is male
-----

      type:    numeric (byte)

      range:    [0,1]          units:    1
unique values:  2                missing .:  0/4,598

tabulation:      Freq.    Value
                  2,629    0
                  1,969    1

```

```

-----
nicoya
Residence is in Nicoya region
-----

      type:    numeric (byte)

      range:    [0,1]          units:    1
unique values:  2                missing .:  0/4,598

tabulation:      Freq.    Value
                  3,871    0
                   727    1

```

```

-----
lot
Assay lot year
-----

      type:    numeric (float)

      range:    [2010,2014]    units:    1
unique values:  2                missing .:  0/4,598

tabulation:      Freq.    Value
                  977     2010
                  3,621   2014

```

```

-----
modnaextra
Month DNA extracted
-----

      type:    numeric (byte)

      range:    [1,11]         units:    1
unique values:  11             missing .:  0/4,598

      mean:     6.75772
      std. dev:  3.25349

```

percentiles:	10%	25%	50%	75%	90%
	2	2	7	10	10

```

yrdnaextra
Year DNA extracted

```

```

      type:  numeric (int)
      range:  [2005,2012]
unique values: 6
      units:  1
missing .:  0/4,598

      tabulation:  Freq.  Value
                   260    2005
                   96    2006
                   1,167  2007
                   706    2010
                   1,295  2011
                   1,074  2012

```

```

moltlmeasur
Month LTL measured

```

```

      type:  numeric (byte)
      range:  [2,10]
unique values: 3
      units:  1
missing .:  0/4,598

      tabulation:  Freq.  Value
                   20     2
                   3,621   7
                   957    10

```

```

yrltlmeasur
Year LTL measured

```

```

      type:  numeric (int)
      range:  [2010,2014]
unique values: 2
      units:  1
missing .:  0/4,598

      tabulation:  Freq.  Value
                   977    2010
                   3,621  2014

```

```

storeblood
Months stored blood

```

```

      type:  numeric (byte)
      range:  [2,64]
unique values: 47
      units:  1
missing .:  0/4,598

      mean:    15.3704
      std. dev: 13.3883

      percentiles:  10%      25%      50%      75%      90%
                   5        7        11        16        34

```

```

storedna
Months stored DNA

```

type:	numeric (int)				
range:	[1,114]		units:	1	
unique values:	55		missing .:	0/4,598	
mean:	43.1938				
std. dev:	24.0136				
percentiles:	10%	25%	50%	75%	90%
	29	29	36.5	46	83