

Biomarcadores moleculares en el síndrome de fragilidad

■ Pizano-Escalante, María Guadalupe¹
■ De la Mora-López, David Alejandro¹

Resumen

El *síndrome de fragilidad* se define como un estado clínico de incremento en la vulnerabilidad que predispone a eventos adversos a los adultos mayores y se caracteriza por un declive acelerado en la función a través de múltiples sistemas fisiológicos. El diagnóstico actual de esta patología se realiza mediante evaluaciones clínicas. Dentro de los criterios para su diagnóstico, el modelo de fenotipo físico y el de acumulación de déficits son los que han demostrado mayor validez. Actualmente resulta de gran interés la búsqueda de biomarcadores que ofrezcan una herramienta objetiva para el diagnóstico de la fragilidad. Existen múltiples moléculas candidatas para este fin, desde marcadores inflamatorios, modificaciones hormonales, moléculas que reflejan alteraciones en la reparación celular y otras a nivel hematológico, aún sin un consenso acerca de su uso. Es por ello que el objetivo de esta revisión es exponer la investigación de moléculas y su uso potencial como biomarcadores de fragilidad.

Palabras clave: Síndrome de fragilidad, biomarcador, adulto mayor.

Abstract

The *frailty syndrome* is defined as a clinical state of increased vulnerability that predisposes to adverse events in older adults, and it is characterized by an accelerated decline in function through multiple physiological systems. The current diagnosis of this pathology is made through clinical evaluations. Among the criteria for its diagnosis, the physical phenotype model and the deficit accumulation model have shown the greatest validity. Currently it is of great interest the search for biomarkers that offer an objective tool for the diagnosis of frailty. There are multiple candidate molecules for this purpose, from inflammatory markers, hormonal modifications, molecules that reflect alterations in cell repair, and others at hematological level, currently without consensus on its use. For this reason, the objective of this review is to list the investigation of molecules and their potential use as biomarkers of fragility.

Keywords: Frailty syndrome, biomarker, elderly.

¹ Departamento de Ciencias Biomédicas, Centro universitario de Tonalá, Universidad de Guadalajara. Guadalajara, Jalisco, México.



Introducción

La fragilidad representa un síndrome geriátrico. Éste se define como un estado de incremento en la vulnerabilidad que conlleva una pérdida de la homeostasis, comprometiendo las reservas fisiológicas necesarias para enfrentar diferentes estresores. En la búsqueda de estrategias diagnósticas para una intervención más temprana, se han evaluado múltiples moléculas como potenciales biomarcadores, debido a que éstas pueden representar una herramienta de evaluación objetiva de una enfermedad, o ser un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos e incluso reflejar la respuesta a intervenciones terapéuticas.¹

El objetivo de la siguiente revisión es mostrar un panorama de los potenciales biomarcadores de fragilidad y su posible uso diagnóstico, además de describir algunas de las conclusiones actuales de moléculas en específico. La obtención de la información se llevo a cabo a través de la búsqueda con las palabras clave en PubMed.

Desarrollo

Biomarcadores y su uso en la fragilidad

Hasta el momento no se cuenta con un estándar de oro para el diagnóstico de fragilidad, y los criterios clínicos disponibles son sumamente heterogéneos. Esto ha despertado el interés durante las últimas décadas acerca de biomarcadores que puedan medir objetivamente la enfermedad.¹

De acuerdo con los procesos biológicos y fisiopatológicos que subyacen a esta condición, se han identificado marcadores potenciales cuyas modificaciones podrían reflejar el grado de la enfermedad o incluso demostrar una respuesta a intervenciones terapéuticas.² Sin embargo, aun cuando existe una gran cantidad de moléculas propuestas, actualmente ninguna es usada en la clínica para fines diagnósticos o de pronóstico,³ probablemente porque se han evaluado de manera transversal en estudios clínicos sin relación con intervenciones terapéuticas.¹

A pesar de lo anterior, la evaluación paraclínica ha demostrado su utilidad con fines pronósticos. Mitnitski propuso un índice de fragilidad basado en la acumulación de biomarcadores, comparable al índice de fragilidad clínico usado como diagnóstico en el que

la acumulación de enfermedades aumenta el grado de fragilidad. Se evaluaron 21 diferentes marcadores, incluyendo moléculas de inflamación, células sanguíneas, marcadores de inmunosenescencia y daño al ácido desoxirribonucleico (ADN), lo que demuestra que la elevación de este índice predecía riesgo de mortalidad de manera más temprana que el índice clínico utilizado actualmente.⁴

Resulta interesante que las mediciones paraclínicas podrían anteceder a las manifestaciones clínicas de la enfermedad, logrando una identificación e intervenciones tempranas.

A continuación, se describen los principales biomarcadores propuestos y las relaciones encontradas en estudios previos (ver tabla 1).

Inflamación crónica y biomarcadores

La inmunosenescencia se asocia de manera característica a un estado llamado *inflammaging*, un incremento inapropiado en la respuesta inflamatoria observada en los adultos mayores cuyo origen está relacionado con una exposición antigénica crónica.⁵ La producción continua de especies reactivas de oxígeno constituye uno de los estímulos constantes al sistema inmune, desencadenando un estado inflamatorio crónico presente en pacientes longevos y de manera constante en pacientes frágiles, lo que se refleja en un incremento de citocinas inflamatorias entre las que destaca la interleucina 6 (IL6).⁶ El efecto de este estado inflamatorio en la fragilidad se asocia con algunos de sus principales componentes, como la sarcopenia y la caquexia, determinando un incremento en la mortalidad, disminución en la fuerza muscular, alteraciones en las actividades instrumentales y una mala autopercepción de salud.⁷

En este sentido, los marcadores de inflamación intervienen en la fragilidad, probablemente por el impacto en la función muscular. Calvani y colaboradores² han asociado, en pacientes con fragilidad y sarcopenia, un incremento en el factor de crecimiento de colonias de granulocitos (GM-CSF), P-selectina, interleucina 1B (IL1B), IL6, 10, 12, 13 y factor de necrosis tumoral (TNF) con una disminución en la velocidad de la marcha y un pobre desempeño físico medido por prueba breve de desempeño físico (SPP).

Tabla 1. Biomarcadores potenciales y estudios que han evaluado su asociación con la fragilidad

Autor y año	Biomarcadores	Patrón	Diseño y medición de fragilidad	Relación	Referencia
Calvani, 2018	IL6, 10, 12, 13 GM-CSF P-selectina TNF α	Incremento en todos los marcadores	Transversal Fenotipo de fragilidad/ sarcopenia	Bajo rendimiento físico y lentitud en la marcha	Calvani R, Picca A, Mariani F, <i>et al.</i> (2018). The BIOMarkers associated with sarcopenia and Physical frailty in ELderly pErsons (BIOSPHERE) study: rationale, design and methods. doi:10.1016/j.ejim.2018.05.001
Hsu, 2017	IL6 IL8	Incremento en interleucinas	Longitudinal Fenotipo de fragilidad e índice de fragilidad	Positiva con la presencia de fragilidad Negativa para la incidencia de la enfermedad	Hsu B, Hinari V, Cumming RG, <i>et al.</i> (2017). Cross-sectional and longitudinal relationships between inflammatory biomarkers and frailty in community-dwelling older men: the concord health and ageing in men project. doi:10.1093/gerona/glx142
Darvin, 2013	Transferrina Fibrinógeno IL6 Haptoglobina	Incremento en niveles Disminución en niveles	Transversal Fenotipo de fragilidad	Presencia de fragilidad y número de criterios de Fried cumplidos Negativa	Darvin K, Randolph A, Ovalles S, <i>et al.</i> (2013). Plasma protein biomarkers of the geriatric syndrome of frailty. doi:10.1093/gerona/glt183
Semmarath, 2019	PCR IL6 Colesterol HDL y triglicéridos Hemoglobina AST y ALT Cuenta leucocitaria BUN Creatinina IGF-1	Incremento en niveles Disminución en niveles Sin modificaciones	 Transversal Fenotipo de fragilidad	 Presencia de fragilidad con elevación de niveles Reducción de niveles séricos en pacientes frágiles Sin modificaciones al comparar pacientes frágiles con no frágiles	 Semmarath W, Seesen M, Yodkeeree S, <i>et al.</i> (2019). The association between frailty indicators and blood based biomarkers in early old community dwellers of Thailand. doi:10.3390/ijerph1618345

Autor y año	Biomarcadores	Patrón	Diseño y medición de fragilidad	Relación	Referencia
Yang, 2018	Procalcitonina PCR IL6	Incremento en niveles	Transversal Herramienta FRAIL	No se encontró, tras ajustar variables confusoras, relación con fragilidad	Yang Y, Hao Q, Flaherty JH, <i>et al.</i> (2018). Comparasion of procalcitonin, a potentially new inflammatory biomarker of frailty, to interleukin-6 and C-reactive protein among older chinese hospitalized patients. doi. org/10.1007/s40520-018-0964-3
Furtado, 2019	En saliva de: Testosterona Cortisol* DHE IgA LYS IL1B* IL6* α amilasa* Séricos: TNF α * INF γ IL10* Radio TNF α /IL10* Volumen corpuscular medio*	Incremento en niveles Disminución en niveles	Transversal Fenotipo de fragilidad	Presencia de fragilidad, debilidad física y autorreporte de agotamiento	Furtado GE, Uba-Chupel M, Minuzzi L, <i>et al.</i> (2019). Exploring the potential of salivatory and blood immune biomarkers to elucidate physical frailty in institutionalized older women. doi. org/10.1016/j.exger.2019.110759
Chew, 2018	Miostatina IGF-1	Disminución en niveles	Longitudinal Fenotipo de fragilidad	Presencia de fragilidad y declive funcional en presencia de sarcopenia	Chew J, Tay L, Lim JP, <i>et al.</i> (2019). Serum myostatin and IGF-1 as gender specific biomarkers of frailty and low muscle mass in community dwelling older adults. doi: 10.1007/s12603-019-1255-1
Cabl,e 2018	Albúmina Cretinina Ácido úrico Hemoglobina HDL LDL Trigliceridos HbA1c	Albúmina menor a lo normal, LDL bajo, HbA1c arriba o debajo de lo normal	Transversal SOF (osteoporotic frailty index)	Presencia de fragilidad	Cable N, Hiyoshi A, Kondo N, <i>et al.</i> (2018). Identifying frail related biomarkers among community dwelling older adults in Japan: a research example from the Japanese gerontological evaluation study. doi. org/10.1155/2018/5362948
Pérez-Zepeda, 2019	Hemoglobina Vitamina D HbA1c	Disminución en niveles Modificaciones positivas y negativas	Transversal Índice de fragilidad	Presencia de fragilidad	Pérez-Zepeda MU, García-Peña C, Carrillo-Vega MF. (2019). Individual and cumulative association of commonly use biomarkers on frailty: a cross-sectional analysis of the Mexican health and aging study. doi. org/10.1007/s40520-019-01127-4

Autor y año	Biomarcadores	Patrón	Diseño y medición de fragilidad	Relación	Referencia
Rusanova, 2018	Relacionados con inflamación: miR-21 miR-146a miR-223 Antienviejimiento: miR-438 LOP IL6 IL8 IL10 TNF α	miR-21, 223 y 483 incrementados IL8 y TNF α incrementados Incrementado Incrementados	Transversal Fenotipo de fragilidad Escala de actividad física en el anciano	Presencia de fragilidad	Rusanova I, Díaz-Casado ME, Fernández-Ortiz M, <i>et al.</i> (2018). Analysis of plasma microRNAs as predictors and biomarkers of aging and frailty in humans. doi: org/10.1155/2018/7671850
Valdiglesias, 2015	γ H2AX	No relación con los niveles	Transversal Fenotipo de fragilidad	Presencia de fragilidad	Valdiglesias V, Bonassi S, Dell V, <i>et al.</i> (2015). Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and frailty status in elderly. A lack of association with clinical features. <i>Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen</i> ; 780:47-54. doi:10.1016/j.mrfmmm.2015.07.010
Martínez-Esquerro, 2019	Telómeros LOP ROS	Relación positiva con acortamiento de telómeros No relación con estrés oxidativo	Transversal Fenotipo de fragilidad	Presencia de fragilidad	Martínez-Esquerro JD, Rodríguez-Castañeda A, Ortíz-Ramírez M, <i>et al.</i> (2019). Oxidative stress, telomere length, and frailty in an old age population. doi: 10.24875/RIC.19003116

* IL (interleucina), GM-CSF (factor de crecimiento de colonias de granulocitos), TNF α (factor de necrosis tumoral alfa), PCR (proteína C reactiva), HDL (colesterol de alta densidad), AST (aspartato aminotransferasa), ALT (alanino aminotransferasa), BUN (nitrógeno ureico), IGF-1 (factor de crecimiento afín a la insulina 1), LDL (colesterol de baja densidad), HbA1c (hemoglobina glucosilada), miR (microRNAs), LOP (peroxidación de lípidos), γ H2AX (histona H2A), ROS (especies reactivas de oxígeno). *(biomarcadores que sí sufrieron modificaciones).

La relación más constante encontrada entre la fragilidad y citocinas inflamatorias la representan la IL6, TNF y la proteína C reactiva (PCR), una proteína sintetizada por el hígado en respuesta a factores liberados por macrófagos y células T.¹ En pacientes frágiles existe una elevación en los niveles de IL6 al compararlos con robustos, que representan el extremo opuesto de la fragilidad, es decir sanos y activos, mismo que se ha demostrado para PCR y el TNF,⁸ e incluso existe una relación directamente proporcional entre componentes específicos de la fragilidad, como el número de criterios clínicos cumplidos o la fuerza prensil medida por dinamometría, con los niveles séricos de estos marcadores.⁹ Cabe mencionar que los resultados no son consistentes en todos los estudios;¹⁰ existen menciones en la literatura de una asociación entre la presencia de fragilidad y disminución en los niveles séricos de IL6,¹¹ esto último explicado probablemente por una condición de fragilidad avanzada asociada a malnutrición y una pobre respuesta inmune.

Cabe mencionar que en las evaluaciones de marcadores relacionados con inflamación es frecuente se incluya pacientes con enfermedades cardiovasculares, diabetes u obesidad, lo que es pertinente debido a la asociación de procesos inflamatorios en estas condiciones, lo que lleva a desconocer de manera general los niveles de interleucinas esperados o sus modificaciones asociados a estas enfermedades crónicas.

Modificaciones metabólicas y su efecto en la función física

Las modificaciones en el patrón de secreción hormonal pueden estar relacionadas con componentes específicos del síndrome de fragilidad debido al efecto de estas hormonas en el sistema musculoesquelético y, por consecuencia, en los componentes de la enfermedad. Se han considerado como potenciales biomarcadores a la testosterona y su precursora, la dihidroepiandrosterona (DHEA), hormonas anabólicas relacionadas con el metabolismo muscular, a la vitamina D y el factor de crecimiento afín a la insulina (IGF-1).¹²

La disminución en la secreción de testosterona se encuentra involucrada tanto en hombre como en mujeres, y en el caso de la DHEA, sólo en las mujeres postmenopáusicas. Se ha demostrado que niveles altos de testosterona libre y DHEA se asocian a niveles

bajos de fragilidad y, por el contrario, elevaciones en la hormona luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH) a un alto riesgo de la enfermedad, independientemente de la edad.⁸

Por su parte, el incremento en el riesgo asociado a la disminución en los niveles de IGF-1 es controvertido, ya que existen estudios que no demuestran esta relación¹ e, incluso, el riesgo se ha encontrado sólo en mujeres y sólo en aquellas con baja masa muscular; lo mismo se ha sugerido para la miostatina.¹³

La vitamina D es de interés, ya que interviene de manera activa en el metabolismo muscular y óseo. Su uso como biomarcador es controvertido debido a que sus niveles están condicionados por factores como la edad, el sexo o la región geográfica. Aun así se ha demostrado que una reducción en sus niveles se asocia a un incremento en el riesgo de hasta 1.5 veces para el desarrollo de fragilidad,¹⁴ siendo su administración exógena una de las intervenciones terapéuticas más estudiadas en este contexto.

Es evidente que lo descrito en relación con modificaciones hormonales está centrado en el componente físico de la enfermedad, y podría reflejar sarcopenia, condición frecuente pero no indispensable para el diagnóstico.

Biomarcadores hematológicos

Otra de las manifestaciones de la inmunosenescencia es la activación de células específicas como parte de la respuesta inmune al estado inflamatorio crónico. En el contexto de la fragilidad, se ha demostrado un incremento en la cuenta total de linfocitos, específicamente en la subpoblación de neutrófilos, y, aunque de manera inconsistente en los diferentes estudios, un aumento en el ratio de linfocitos CD4/CD8.¹ En el caso de los linfocitos B se disminuye de manera considerable el número de células nativas, con una elevación compensatoria en las células de memoria.¹⁵

El estado inflamatorio crónico característico de la fragilidad interfiere con la capacidad de fijación del hierro, por lo que, asociado a factores como la alta frecuencia de malnutrición y baja ingesta, en pacientes frágiles la frecuencia de anemia es tanta que se ha considerado como un potencial biomarcador hematológico. Los resultados han sido constantes. A pesar de que se ha determinado un incremento en el riesgo

de fragilidad mayor a 1.6 veces con niveles bajos de hemoglobina,¹⁴ algunos estudios no han demostrado una asociación.¹⁶

A pesar de que la accesibilidad para la medición de hemoglobina o conteos celulares totales puede ser atractiva para usarlos como biomarcadores, el gran número de circunstancias que los modifican dificulta lograr una interpretación y establecimiento de niveles de referencia.

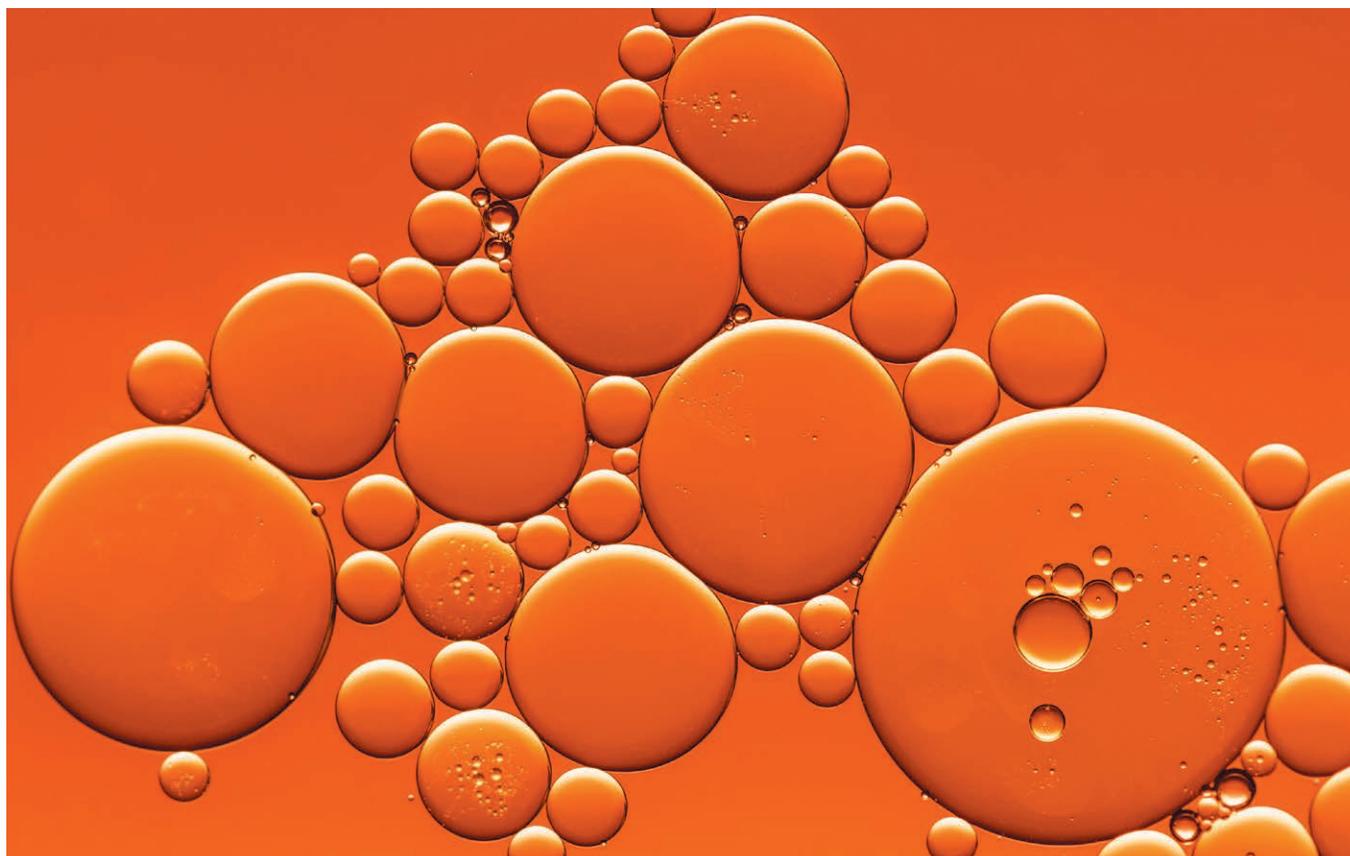
Fragilidad a nivel subcelular

El envejecimiento puede ser considerado un efecto inevitable de la división celular. Diversos procesos a este nivel sufren modificaciones en los organismos con el paso del tiempo y se vuelven menos eficaces. Muestra de ello es la generación de ERO, daños en la reparación de material genético, acortamiento de telómeros, por mencionar algunos. Cabe mencionar que, a nivel de material genético, las lesiones en ADN no han mostrado asociación con fragilidad.¹⁷

De manera fisiológica, el metabolismo celular genera ERO, con potenciales efectos negativos a nivel

de material genético, proteínas y lípidos de las membranas celulares, por lo que el estrés oxidativo y la peroxidación de lípidos son considerados potenciales marcadores de lesión celular involucrada en condiciones como la fragilidad e incluso el simple envejecimiento. Al evaluar esta diana potencial, Martínez y colaboradores¹⁸ no encontraron una relación entre el estatus de fragilidad y la peroxidación de lípidos y niveles de especies reactivas de oxígeno. Por su parte, el acortamiento de telómeros, regiones esenciales para los procesos de transcripción, se encuentra relacionado con dichos procesos de estrés oxidativo, proponiéndose como marcadores debido a su relación positiva con la enfermedad.¹⁸

Los micronúcleos son cuerpos intracitoplasmáticos excluidos del núcleo durante el proceso de división celular. Contienen cromosomas o parte de los mismos, y se usan actualmente para demostrar daño genotóxico y como expresión de procesos de inestabilidad genómica, es decir, eventos genéticos capaces de generar daño ya sea temporal o permanente, o errores en la reparación del genoma.¹⁹ En pacientes frágiles, se ha



demostrado un incremento en su frecuencia en linfocitos de sangre periférica al compararlos con pacientes robustos, además de tener una relación directamente proporcional con el grado de fragilidad.²⁰

Los microrna son fragmentos de RNA no codificados de pequeño tamaño que regulan la expresión de genes de diversas proteínas diana mediante unión complementaria imperfecta, pudiendo reducir su expresión.²¹ Se asocian con diversos procesos patológicos incluyendo los relacionados con trastornos musculoesqueléticos como la sarcopenia, y debido a que se consideran fácilmente medibles en sangre también han sido propuestos como marcadores de fragilidad en etapas tempranas. Subtipos específicos de estos miRNA se han relacionado con la presencia de fragilidad, algunos de los cuales están asociados a inflamación y al proceso de envejecimiento.²¹

Discusión

Actualmente existen diversas publicaciones que describen los posibles biomarcadores asociados a la fragilidad que, como hemos comentado, abarcan modificaciones en múltiples niveles, desde sistemas, órganos y células, lo que refuerza la propuesta de que la fragilidad es una enfermedad multisistémica.

Los marcadores inflamatorios, principalmente interleucinas, son algunos de los más estudiados y han tenido resultados prometedores a pesar de la poca especificidad que se puede esperar de ellos, ya que sus modificaciones ocurren asociadas a diversos procesos, desde infecciosos hasta enfermedades cardiovasculares. Además, las relaciones que se han establecido en su mayoría no han sido de causalidad por el diseño de los estudios, transversales en su mayoría, y los pocos que se han realizado de manera longitudinal no han demostrado una relación entre niveles de biomarcadores y la incidencia de la enfermedad o modificaciones entre el estado de fragilidad en el tiempo.¹²

Por su parte, los marcadores hormonales se relacionan estrechamente con el componente físico de la fragilidad debido al impacto en las modificaciones de hormonas, primordialmente sexuales, con la masa muscular.

Las modificaciones relacionadas con la reparación celular, daño genotóxico y estrés oxidativo parecen reflejar el componente de acumulación de daño de la enfermedad, a pesar de lo cual los estudios al respecto han mostrado, hasta el momento, los datos más contradictorios.

Algo que podemos concluir es que la utilidad de los biomarcadores en el diagnóstico temprano radica en que las alteraciones a nivel celular y subcelular se acumulan hasta lograr un impacto a nivel orgánico y sistémico que se manifiesta en la función física.²² Debido a esto, las herramientas clínicas actuales, aunque de enorme valor para la descripción de la fragilidad en poblaciones, no ha sido de completa utilidad a nivel individual. Existen muchos pacientes que cursan por la enfermedad hasta una importante severidad, momento en el cual reciben un diagnóstico sin grandes expectativas de mejoría clínica con intervenciones terapéuticas.

La principal aspiración sería encontrar un marcador que esté presente desde etapas tempranas de la enfermedad, y que sus niveles se modifiquen en relación al avance de la enfermedad, pero esto no ha ocurrido. Hasta el momento, las mediciones de múltiples biomarcadores a la vez han sido las más exitosas. Sin embargo, si consideramos el alto costo que esto representa, se sugiere reservarlos para el escenario de la investigación clínica.²²

A pesar de las dificultades encontradas, la identificación de un biomarcador o un grupo de biomarcadores que contribuyan al diagnóstico temprano de la fragilidad es de gran importancia. La carga de dependencia funcional a la que conduce esta patología es enorme en los adultos mayores. Los esfuerzos futuros deberían estar encaminados al seguimiento de pacientes, su grado de fragilidad y las modificaciones en sus biomarcadores, logrando así establecer relaciones causales, incluso con la intervención de medidas de tratamiento que modifiquen potencialmente estos biomarcadores.



Referencias

1. Kane AE, Sinclair DA. (2019). Frailty biomarkers in humans and rodents: Current approaches and future advances. *Mech Ageing Dev*; 180(April):117-128. doi:10.1016/j.mad.2019.03.007
2. Calvani R, Picca A, Marini F, et al. (2018). The “BIOmarkers associated with Sarcopenia and PHysical frailty in Elderly pErsons” (BIOSPHERE) study: Rationale, design and methods. *Eur J Intern Med*; 56(April):19-25. doi:10.1016/j.ejim.2018.05.001
3. Ipson BR, Fletcher MB, Espinoza SE, Fisher AL. (2018). Identifying Exosome-Derived MicroRNAs as Candidate Biomarkers of Frailty. *J frailty aging*; 7(2):100-103. doi:10.14283/jfa.2017.45
4. Mitnitski A, Collerton J, Martin-Ruiz C, et al. (2015). Age-related frailty and its association with biological markers of ageing. *BMC. Med*; 13(161).
5. Fulop T, McElhaney J, Pawelec G, et al. (2015). Frailty, Inflammation and Immunosenescence. *Interdiscip Top Gerontol Geriatr*; 41:26-40. doi:10.1159/000381134
6. Ventura MT, Casciaro M, Gangemi S, Buquicchio R. (2017). Immunosenescence in aging : between immune cells depletion and cytokines up - regulation. *Clin Mol Allergy*; 1-8. doi:10.1186/s12948-017-0077-0
7. Allen SC. (2017). Systemic inflammation in the genesis of frailty and sarcopenia: An overview of the preventative and therapeutic role of exercise and the potential for drug treatments. *Geriatr*; 2(1). doi:10.3390/geriatrics2010006
8. Wang J, Maxwell CA, Yu F. (2019). Biological Processes and Biomarkers Related to Frailty in Older Adults: A State-of-the-Science Literature Review. *Biol Res Nurs*; 21(1):80-106. doi:10.1177/1099800418798047
9. Darvin K, Randolph A, Ovalles S, et al. (2014). Plasma Protein Biomarkers of the Geriatric Syndrome of Frailty. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*; 69(2):182-186. doi:10.1093/gerona/glt183
10. Yang Y, Hao Q, Flaherty JH, et al. (2018). Comparison of procalcitonin, a potentially new inflammatory biomarker of frailty, to interleukin-6 and C-reactive protein among older Chinese hospitalized patients. *Aging Clin Exp Res*; 30(12):1459-1464. doi:10.1007/s40520-018-0964-3

11. Furtado GE, Uba-Chupel M, Patrício M, *et al.* (2019). uºr na l P re ro of. *Exp Gerontol.* 2019:110759. doi:10.1016/j.exger.2019.110759
12. Saedi AAl, Feehan J, Phu S, Duque G. (2019). Current and emerging biomarkers of frailty in the elderly. *Clin Interv Aging*; 389-398.
13. Chew J, Tay L, Lim JP, *et al.* (2019). Serum myostatin and igf-1 as gender-specific biomarkers of frailty and low muscle mass in community-dwelling older adults. *The journal of nutrition, health & aging*; (12).
14. Ulises M, Zepeda P, García C, María P, Carrillo F. (2019). Individual and cumulative association of commonly used biomarkers on frailty : a cross-sectional analysis of the Mexican Health and Aging Study. *Aging Clin Exp Res.*;0 (0):0. doi:10.1007/s40520-019-01127-4
15. Romero-cabrera ÁJ, Amores-Hernández L, Fernández E. (2013). Inmunosenescencia y fragilidad: una mirada actual. *Medicina interna de México*; 605-611.
16. Cable N, Hiyoshi A, Kondo N, Aida J, Sjöqvist H, Kondo K. (2018). Identifying Frail-Related Biomarkers among Community-Dwelling Older Adults in Japan: A Research Example from the Japanese Gerontological Evaluation Study. *Biomed Res Int*; 2018. doi:10.1155/2018/5362948
17. Marzetti E, Lorenzi M, *et al.* (2014). Shorter telomeres in peripheral blood mononuclear cells from older persons with sarcopenia : results from an exploratory study. *Front Aging Neurosci*; 6(August):1-8. doi:10.3389/fnagi.2014.00233
18. Martínez-Ezquerro JD, Rodríguez-Castañeda A, Ortiz-Tamírez M, *et al.* (2019). Oxidative Stress, Telomere Length, and Frailty in an Old Age Population. *Rev Invest Clin*; 393-401. doi:10.24875/RIC.19003116
19. Valdiglesias V, Bonassi S, Dell V, *et al.* (2015). Mutation Research / Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and frailty status in elderly. A lack of association with clinical features. *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen*; 780:47-54. doi:10.1016/j.mrfmmm.2015.07.010
20. Sánchez-Flores M, Marcos-Pérez D, Lorenzo-López L, *et al.* (2018). Frailty Syndrome and Genomic Instability in Older Adults : Suitability of the Cytome Micronucleus Assay As a Diagnostic Tool. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*; 73(7):864-872. doi:10.1093/gerona/glx258
21. Rusanova I, Diaz-Casado ME, Fernández-Ortiz M, *et al.* (2018). Analysis of Plasma MicroRNAs as Predictors and Biomarkers of Aging and Frailty in Humans. *Oxid Med Cell Longev*; 2018. doi:10.1155/2018/7671850
22. Muscedere J, Kim PM, Afilalo J, *et al.* (2019). Proceedings of the Canadian Frailty Network Workshop: Identifying Biomarkers of Frailty to Support Frailty Risk Assessment, Diagnosis and Prognosis. Toronto, January 15, 2018. *J frailty aging*; 8(3):106-116. doi:10.14283/jfa.2019.12